

Die Leptospiren
unter besonderer Berücksichtigung ihrer
antigenen Eigenschaften

Habilitationsschrift

zur

Erlangung der venia legendi

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Ernst Wiesmann

von Wiesendangen (Zürich)

1952



Sonderdruck aus „Ergebnisse der Hygiene“

Band 27, Seite 323—419, 1952

(Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg)

Die Leptospiren unter besonderer Berücksichtigung ihrer antigenen Eigenschaften.

Von

ERNST WIESMANN.

(Aus dem Bakteriologischen Institut des Kantons St. Gallen.)

Mit 22 Abbildungen.

Inhalt.

	Seite
Vorwort	325
<i>Erster, allgemein biologischer Teil</i>	326
I. Historischer Überblick	326
II. Allgemeine Eigenschaften der Leptospiren	327
A. Morphologie	327
B. Beweglichkeit, Resistenz, Vermehrung	332
C. Darstellungsverfahren	334
1. Mikroskopische Darstellung	334
2. Kulturverfahren	335
3. Tierversuche	336
a) Meerschweinchen, zum Nachweis der <i>L. icterohaemorrhagiae</i>	337
b) Goldhamster, zum Nachweis der <i>L. canicola</i> und der <i>L. icterohaemorrhagiae</i>	337
c) Nachweis von Leptospiren, die für Versuchstiere nur beschränkt pathogen sind	338
III. Klassifizierung der Leptospiren und Einteilung derselben in Species	338
A. Allgemeine Klassifizierung	338
B. Unterteilung in Arten (Species)	340
IV. Die antigenen Eigenschaften der Leptospiren	347
A. Die Antigene der einzelnen Leptospirenarten	347
B. Zusammenfassung der Species in Gruppen	347
1. Grippotyphosagruppe	348
2. Hebdomadisgruppe	351
3. Pomonagruppe	351
4. Canicola-Icterohaemorrhagiae-Gruppe	352
C. Das Phänomen der Mit-Agglutinine	354
1. Spezifische Mit-Antikörper	355
2. Unspezifische Mit-Antikörper	355
D. Leptospirenantikörper und Hammelblutkörperchen-Agglutinine	359
V. Leptospirenkrankungen bei Mensch und Tier	364
A. Zustandekommen der Infektionen	364
1. Eintrittspforte: Haut und Schleimhäute	364
2. Perorale Infektion	365
3. Transplacentare Infektion	365
B. Die durch die einzelnen Leptospirenarten bedingten Erkrankungen beim Menschen	367
1. Gruppe	368

	Seite
2. Gruppe	368
3. Gruppe	368
C. Leptospirenerkrankungen bei Tieren	369
1. Hundeleptospirose	369
2. Leptospirose der Rinder	370
3. Leptospirose der Pferde. Rezidivierende Iridocyclitis	371
4. Leptospirosen bei den als Leptospirenträger bekannten Tieren	372
5. Zur Frage der Leptospirenätiologie des bösartigen Katarrhalfiebers des Rindes	373
VI. Immunität	373
A. Erworbene Immunität nach natürlicher Erkrankung. (Artfremde Zweit- erkrankungen)	373
B. Künstliche Immunisierung	376
1. Aktive Immunisierung	376
2. Passive Immunisierung	377
VII. Epidemiologie	377
A. Allgemeine Gesichtspunkte	377
B. Leptospirenausscheider	378
1. Mensch	378
2. Ratten	378
3. Mäuse	379
4. Schwein	379
5. Rind	380
C. Geographisches Vorkommen der Leptospiren	380
D. Berufsklassen, Alters- und Geschlechtsverteilung bei menschlichen Lepto- spirose. Abhängigkeit von jahreszeitlichen und Witterungseinflüssen	385
1. Berufsklassen	385
2. Lebensalter und Geschlechtszugehörigkeit	386
3. Jahreszeitliches Auftreten	387
4. Abhängigkeit von der Witterung	389
E. Prophylaxe	389
1. Allgemeinprophylaktische Maßnahmen	389
2. Behandlung der Leptospirenträger mit Antibiotica	390
a) In vitro-Versuche	390
b) Tierexperimentelle Versuche	390
VIII. Wasserleptospiren	391
A. Allgemeines	391
B. Morphologie	391
C. Biologische Eigenschaften	391
D. Kultivierung	392
E. Antigene	392
Zweiter, untersuchungstechnischer Teil	393
I. Leptospirennachweis	393
A. Mikroskopischer Nachweis der Leptospiren	393
1. Darstellungsmethoden	393
a) Dunkelfelddarstellung	393
b) Tuscheverfahren	393
c) Kombinierte MAY-GRÜNWALD-Färbung nach PAPPENHEIM	393
d) Färbung nach FONTANA	393
e) Färbung nach PULCHER	394
f) Färbung nach VAGO	394
g) Färbung nach VRŠANSKY	394
h) Darstellung im Elektronenmikroskop	394
2. Untersuchungsmaterial	395
a) Urin, Nierengewebe	395
b) Andere Organe, Leber	395
c) Blut	395

	Seite
B. Kultureller Leptospirennachweis	396
1. Nährmedien	396
a) Nährmedium nach KORTHOFF	396
b) Nährmedium nach REITER-RAMME	397
c) Peptonnährmedium nach VERVOORT und WOLFF	397
d) NOGUCHIS halbfester Nährboden	398
e) FLETSCHERS Nährboden für Blutkulturen	398
f) ZUELZERS Eiernährboden	398
2. Kultivieren der Leptospiren	398
a) Leptospirenreinkulturen	398
b) Durch Begleitkeime verunreinigte Leptospirenkulturen	399
3. Untersuchungsmaterialien	399
C. Nachweis der Leptospiren im Tierversuch	400
II. Antikörpernachweis	401
A. Agglutinationsreaktionen	402
1. Agglutinations-Lysis-Reaktion	402
2. Agglutinationsreaktion	407
B. Andere Antigen-Antikörperreaktionen	410
1. Komplementbindungsreaktion	410
2. Agglutinationstest für makroskopische Ablesung	411
3. Präcipitationsreaktion	411
III. Identifizierung von Leptospirenstämmen	411
A. Auf serologischem Wege	411
1. Herstellung stammspezifischer Immunseren	411
2. Gekreuzter Agglutinationstest	411
3. Absättigungsversuch nach CASTELLANI	412
B. Durch den Tierversuch	412
1. PREIFFERScher Versuch	412
2. Nachweis gekreuzter Immunität	413
IV. Impfstoffherstellung	413
A. Formolimpfstoffe	413
B. Durch Tiefkühl Trocknung hergestellte Impfstoffe	413
Literatur	414

Vorwort.

In nachfolgender Arbeit haben wir versucht, das für Leptospiren Wesentliche und heute Bekannte zusammenzufassen. Wir können uns dabei auf eine 7jährige eigene Bearbeitung der Materie stützen und uns deshalb in manchen Belangen ein selbständiges Urteil gestatten.

Nachdem sich das Gesamtgebiet der Leptospiren — wie dies bei anderen Zweigen der Wissenschaft auch der Fall ist — in immer mehr zusammenhangsarmes Einzelwissen zu zersplittern droht, wird angestrebt, was immer möglich und erlaubt ist, auf einen gemeingültigen Nenner zu bringen.

Wir haben uns bemüht, die bekanntesten und am meisten verbreiteten Leptospirenarten nach antigenen Eigenschaften zu ordnen, um auf diese Weise den Grundstein zu legen zu einer umfassenden Systematik der Leptospiren.

Die Untersuchungstechnik haben wir in einem zweiten Teil gesondert behandelt, einerseits um ein Nachschlagen technischer Angaben zu erleichtern, vor allem aber, um die allgemeinbiologischen Probleme in ihrer Ganzheit schöner zur Darstellung bringen zu können.

St. Gallen, im Dezember 1950.

Erster, allgemein biologischer Teil.

I. Historischer Überblick.

Im Jahre 1886 hat der Heidelberger Kliniker WEIL das heute allgemein bekannte Krankheitsbild des Morbus Weil als Krankheitseinheit zutreffend abgegrenzt und genau beschrieben. Erst 29 Jahre später, 1915, gelang es den Deutschen UHLENHUTH und FROMME bei deutschen Truppen in Frankreich (Schützengrabenkrankheit) und unabhängig davon den Japanern INADO und IDO bei japanischen Grubenarbeitern die *L. icterohaemorrhagiae* (von UHLENHUTH *L. icterogenes* genannt) nachzuweisen und als Erreger der gefürchteten WEILschen Krankheit sicherzustellen. Kurz nach Entdeckung der *L. icterohaemorrhagiae* fand man auch, daß diese durch verschiedene Arten von Ratten, namentlich durch die Wanderratte verbreitet wird, indem die Ratten das Wirtsreservoir bilden, und die Leptospiren in großen Mengen mit ihrem Urin ausscheiden.

In den folgenden Jahren, namentlich von 1920—1930 wurden in verschiedenen Erdteilen weitere Leptospirenarten gefunden und als Erreger septicämischer, zum Teil Weil-ähnlicher Erkrankungen erkannt. So entdeckten, um einige wenige Beispiele zu nennen, 1916/17 IDO, ITO und WANI die *L. hebdomanis* als den Erreger des japanischen Siebentagefiebers, 1926 WALCH die *L. bataviae* als Erreger einer indonesischen Weil-ähnlichen Erkrankung und 1934 ABE die *L. autumnalis*, identisch mit der schon 1925 durch KOSHINA, SHIOZAWA und KITAYAMA beschriebenen *L. akijami*, dem Erreger eines japanischen Herbstfiebers.

Nebst verschiedenen menschenpathogenen Leptospiren wurden in stagnierenden Gewässern unter anderem auch vollständig apathogene Leptospiren gefunden, die als Wasserleptospiren bezeichnet wurden. Es wurde angenommen, daß sich, bedingt durch Umwelteinflüsse, pathogene Leptospiren in apathogene umwandeln, und daß umgekehrt Wasserleptospiren durch Adaptation an gewisse Wirtsorganismen pathogen werden können. Diese These wurde vor allem gestützt durch die in den Jahren 1920—1926 vorgenommenen Versuche von ZUELZER und von UHLENHUTH und GROSSMANN.

Die bis etwa 1930 sich erstreckende Forschungsetappe stand vorwiegend unter dem Eindruck der Hypothese von der biologischen Einheitlichkeit aller Leptospiren; wohl nicht zuletzt deshalb, weil anfänglich sowohl klinische wie epidemicologische und mikrobielle Feststellungen in weit entfernten Erdteilen gemacht wurden, und dadurch lange Zeit keine systematisch-vergleichenden Untersuchungen zustande kamen.

Erst eine dritte, um das Jahr 1931 einsetzende Entwicklungsperiode der Leptospirenforschung hat weitere und präzisere Erkenntnisse zutage gefördert. Heute steht fest, daß sich nicht nur die Gruppe der pathogenen Leptospiren streng von derjenigen der Wasserleptospiren abgrenzen läßt, sondern daß sich auch unter den pathogenen Leptospiren eine ganze Anzahl selbständiger Arten einwandfrei und konstant voneinander unterscheiden. Diese einzelnen Arten bewirken nicht nur klinisch differenzierbare Krankheitsbilder, sondern sie lassen

sich auch epidemiologisch voneinander trennen, weil jede Leptospirenspecies an bestimmte Wirtstiere gebunden ist. Schließlich sind es vor allem die antigenen Eigenschaften, welche eine genaue Abgrenzung gewährleisten und auf die sich die gesamte Laboratoriumsdiagnostik aufbaut.

Aus der Entwicklungsphase ab 1931 dürfen folgende Entdeckungen als Wegsteine hervorgehoben werden:

1931 entdeckte TARASSOFF die *L. grippotyphosa* als den Erreger des Wasserfiebers in Rußland; 1937/38 von RIMPAU als Erntefieberepidemien in Süddeutschland und von KATHE als Schlammfieber in Schlesien weiter beschrieben. 1932/33 erfolgte durch KLARENBEEK und SCHÜFFNER die Abgrenzung der *L. canicola*, des Erregers der Stuttgarter Hundeseuche. 1937 beschrieb LUMLEY die *L. australis* als Ursache der in Australien vorkommenden Rohrzuckerkrankheit und BORG PETERSEN konnte eine auf der dänischen Insel Sejrøe vorkommende Sonderart abgrenzen und die Leptospire nach deren Entdeckungsort benennen. In den Jahren 1938—1942 fanden MINO sowie BABUDIERI beim Reisfeldfieber in Oberitalien verschiedene Leptospirenarten, unter anderem die 1937 in Australien von CLAYTON, DERRICK und CILENTO isolierte *L. pomona*. Es war das Verdienst von GSELL, 1944 in Zusammenarbeit mit RIMPAU zu beweisen, daß die in der Schweiz relativ häufig vorkommende Schweinehüterkrankheit durch die *L. pomona* verursacht und demzufolge keine Virusaffektion ist. 1940 isolierte JOHNSON in Australien die *L. mitis*, eine Leptospire, die sich, ähnlich der *L. pomona*, vom Schwein auf den Menschen überträgt. BERNKOPF und OLITZKI fanden 1946 in Palästina die *L. bovis* als Ursache einer beim Rind vorkommenden, auch auf den Menschen übertragbaren, relativ bösartigen Rinder gelbsucht. Die *L. bovis* scheint identisch zu sein mit einer schon 1935 in Südrußland entdeckten *L. icterohaemoglobinuriae bovis*.

Aus USA. sind lange Zeit keine wesentlichen Arbeiten über Leptospiren bekannt geworden. Man scheint dort erst in jüngster Zeit auf das Leptospirenproblem gestoßen zu sein.

1946 isolierten BAKER und LITTLE Leptospiren aus Blut und Milch von erkrankten Rindern im Staate New Jersey und stellten in der Folge fest, daß diese Rinderleptospirenstämme mit den in Palästina isolierten nicht identisch sind. Schließlich haben sich in den Jahren 1948 und 1949 MEYER und BRUNNER in San Francisco eingehend mit Leptospirenproblemen beschäftigt.

1946 gab VAN RIEL die Aufdeckung mehrerer, unter sich verschiedener Leptospirenstämme aus dem Gebiete Zentralafrikas bekannt.

II. Allgemeine Eigenschaften der Leptospiren.

A. Morphologie.

Die Leptospiren sind, wie schon der Name ausdrückt, relativ lange, äußerst feine Gebilde. Deren Länge variiert zwischen 10 und 40 μ und deren Querdurchmesser beträgt 0,1 μ bis maximal 0,2 μ , nach BABUDIERI 0,06—0,12 μ . Die Leptospiren sind als Ganzes flach gebogen, zeigen aber an den Enden stärkere, hakenförmige Abbiegungen (Kleiderbügelform) und weisen durchschnittlich 12—18 ziemlich gleichmäßige Primärwindungen auf. Letztere gelangen nur bei starker Vergrößerung zur Darstellung. Der Leptospirenleib ist im mittleren

Drittel am kräftigsten und verjüngt sich gegen beide Enden zu. Geißeln konnten nie festgestellt werden.

Eine Reihe von Autoren — wie ZUELZER, TIMMERMAN — wollen, der Längsachse des Leptospirenleibes entsprechend, einen Achsenfaden festgestellt haben; andere Forscher — MORTON und ANDERSON, VAN THIEL und VAN ITERS — verneinen solche Befunde.

BABUDIERI hat bei vergleichenden elektronenoptischen Untersuchungen nach Fixierung der Leptospiren mit Osmiumsäure einen peripheren Teil (Hülle) und einen zentralen Teil (Achsenfaden) vom Protoplasma abgrenzen können. Die periphere Hülle läßt sich aber nur nach Fixierung mit einem Schwermetall zur Darstellung bringen. Den zentralen Achsenfaden kann man ohne große Schwierigkeiten einwandfrei sichtbar machen, wenn man den übrigen Leptospirenleib durch tryptischen Abbau zum Verschwinden bringt. So sind die feinen Fäden, die man bei elektronenoptischen Untersuchungen von Leptospiren immer wieder zu Gesicht bekommt, und die verschiedentlich als Geißeln oder gar junge Leptospiren gedeutet wurden, nichts anderes als Achsenfäden von Leptospiren, deren periphere Substanz nicht mehr existiert. Der Leptospirenleib besteht im übrigen aus einem homogenen Protoplasmacylinder, der keine strukturellen Besonderheiten erkennen läßt. Unregelmäßige Protoplasmastrukturen sollen nach BABUDIERI nur in überalterten und degenerierten Leptospirenleibern in Erscheinung treten.

All die Feststellungen über den Feinbau der Leptospiren sind zweifellos mit Vorsicht und mit einem gewissen Vorbehalt zu bewerten, eben weil sie nur an fixierten Leptospiren gemacht werden konnten und weil abgesehen davon bei elektronenoptischen Untersuchungen noch manche technische Unzulänglichkeit zu überbrücken ist. Auch bei Berücksichtigung aller kritischen Vorbehalte ist aber anzunehmen, daß sich der Leptospirenleib, wie dies bei anderen Mikroorganismen auch der Fall ist, in eine periphere Hülle und einen Protoplasmaanteil mit zentralem Achsenfaden trennen läßt.

Abgesehen von unbedeutenden Größenunterschieden (die Größe der Leptospiren kann aber auch bei ein und derselben Art je nach Alter der Kultur und Nährbodenbeschaffenheit wechseln) sind sich alle Leptospirenarten gleich. Nach BABUDIERI konnten auch keine grundsätzlichen Differenzen zwischen pathogenen Leptospiren und Wasserleptospiren festgestellt werden, eine Tatsache, auf die schon 1920 UHLENHUTH und ZUELZER aufmerksam gemacht haben.

Einzelne Autoren, vor allem JAKOB, wollten Granula, die man bei verschiedenen Darstellungsverfahren von Leptospiren immer wieder zu Gesicht bekommt und die entweder frei in Kulturmedien feststellbar sind oder auch mit dem Leptospirenleib zusammenhängen, als Sporen oder Pseudosporen aufgefaßt wissen.

BABUDIERI hat nachgewiesen, daß es sich bei diesen Granula einerseits um Protoplasmaaustritte aus dem Leptospirenleib handeln kann, und daß sich die Bildung solcher Granula provozieren läßt, wenn man den Leptospiren unbiologische Umweltbedingungen, z. B. hypertonische Lösungen, schafft. Andererseits hat ebenfalls BABUDIERI festgestellt, daß die sporenartigen Gebilde in den Kulturen JAKOBS gar nicht von Leptospirensubstanzen herrühren, sondern daß

es sich um eine Mischinfektion der Leptospirenkultur mit *Hyphomicrobium vulgare* handelt, einem Mikroorganismus, der gelegentlich als Saprophyt im Wasser vorkommt. Die Mischinfizierung der Kulturen JAKOBs soll dadurch zustande gekommen sein, daß er für die Kulturmedien kein hitzesterilisiertes Wasser verwendete, sondern Wasser, welches durch Filtration vermeintlich keimfrei gemacht worden ist.

Hyphomicrobium vulgare wurde schon 1897 bei Untersuchungen über die Bildung von Salpeter entdeckt und scheint gewisse Ähnlichkeiten zu haben mit dem 1949 von DUCHOW und DOUGLAS beschriebenen *Rhodomicrobium Vannielii*, einen Mikroorganismus, den die genannten Autoren als selbständige Species in die Gattung *Rhodopseudomonas*, Familie *Athiorhodaceae*, einreihen möchten.

Bis heute fehlt jeder stichhaltige Beweis, daß die Leptospiren imstande sind, Dauerformen zu bilden. Uns selbst ist es nie gelungen, weder aus eingetrockneten Kulturen noch aus getrocknetem, leptospirenhaltigem Gewebsmaterial lebende Leptospiren zur Vermehrung zu bringen.

Elektronenoptische Leptospirenaufnahmen¹.

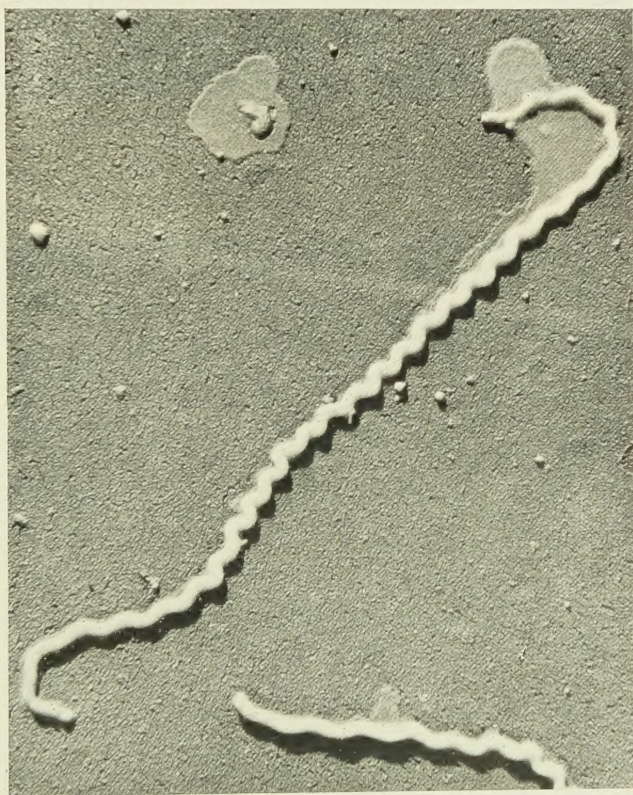


Abb. 1. *L. canicola*, fixiert mit Osmiumsäure, goldbeschattet. Vergr. 12000.

¹ Hergestellt in Zusammenarbeit mit dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Bern durch Herrn Dr. STUDER.



Abb. 2. *L. canicola*, fixiert mit Osmiumsäure. Vergr. 7000.

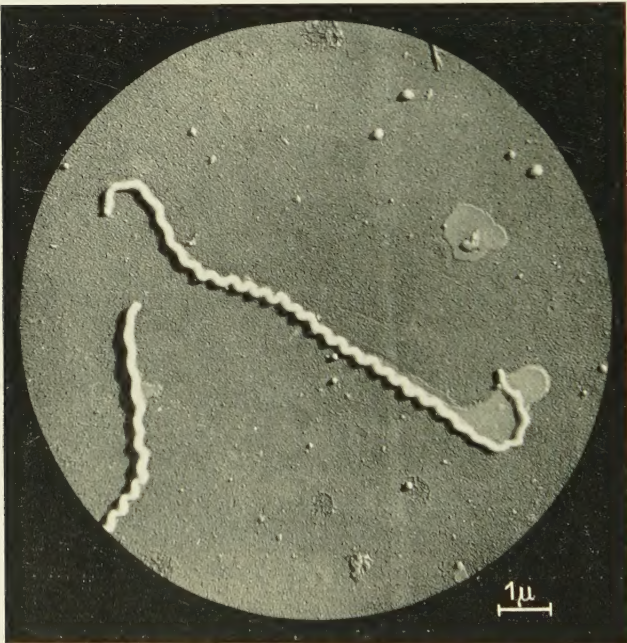


Abb. 3. Wie Abb. 2, jedoch goldbeschattet.

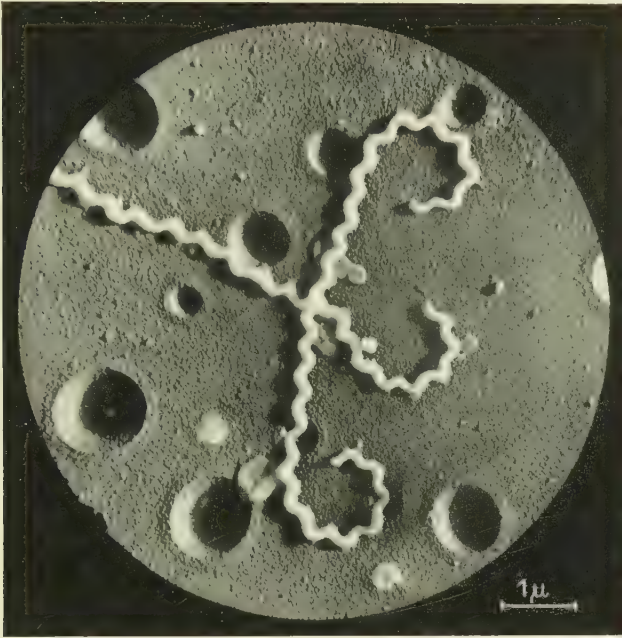


Abb. 4. Wie Abb. 3.

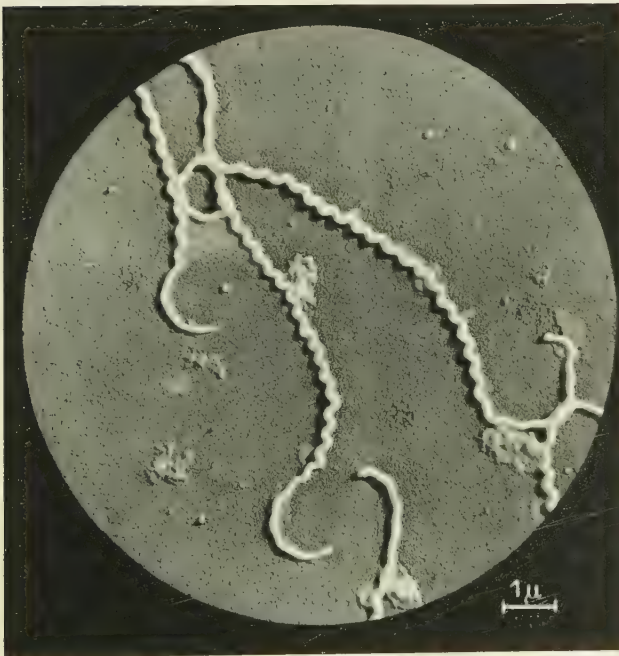


Abb. 5. Wie Abb. 4 bzw. Abb. 3.

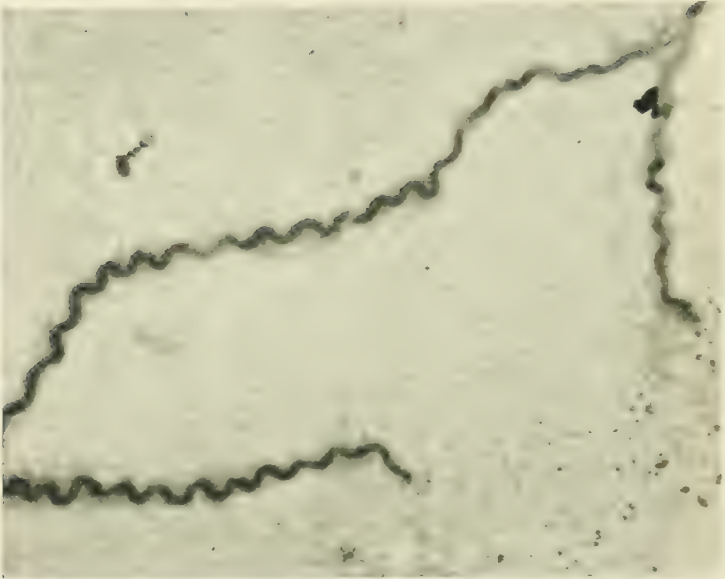


Abb. 6. *L. canicola*, kultiviert in proteinfreiem Medium, nicht fixiert. Vergr. 12000. Man beachte bei dieser Aufnahme (vgl. mit Abb. 7) die weniger scharf konturierte, dafür aber um so natürlichere Zeichnung.

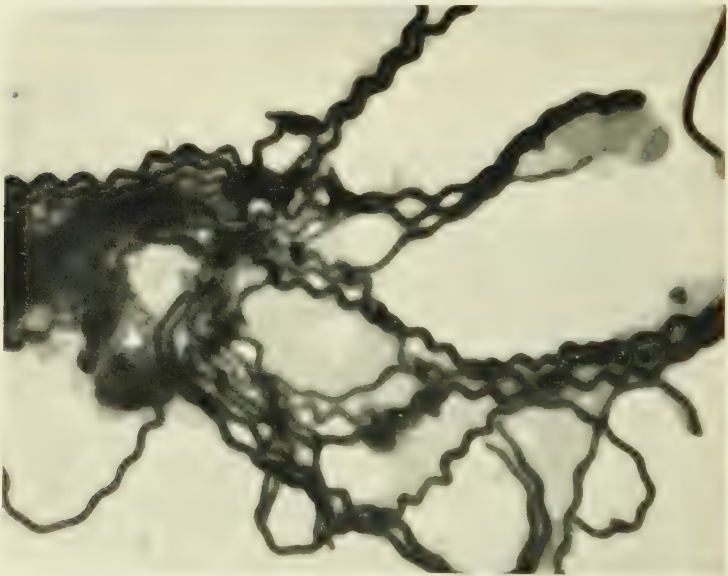


Abb. 7. *L. canicola* (aus Agglutinationsgemisch), fixiert mit Osmiumsäure. Vergr. 12000.

B. Beweglichkeit, Resistenz, Vermehrung.

Alle lebenden Leptospiren zeigen eine intensive Eigenbewegung. Diese kommt dadurch zustande, daß sich der Leptospirenleib sehr rasch um seine eigene Längsachse dreht. Die Bewegung wird vom Leptospirenleib selbst ausgelöst (Geißeln fehlen), sehr wahrscheinlich vom Protoplasma, während der Achsenfaden dafür zu sorgen hat, daß diese Bewegung gleichgerichtet bleibt.

Mit der Hypothese, daß die Eigenbewegung vom Protoplasmaanteil des Leptospirenkörpers und nicht vom Achsenfaden ausgelöst werde, würde vor allem auch die Beobachtung der Tatsache übereinstimmen, daß die Leptospiren als Folge aller schädigenden Einflüsse, seien diese chemischer, antibiotischer oder immunologischer Natur, als erstes stets ihre Beweglichkeit einbüßen. So ist denn auch, wie später ausgeführt werden wird, die Intensität der Eigenbewegung bei der Beurteilung von Immunitätsreaktionen bedeutungsvoll: wenigstens dort, wo mit lebenden Antigenen gearbeitet wird.

Die Penetrationsfähigkeit von Leptospiren in intaktes Wirtsgewebe ist nicht sehr groß, scheint aber wenigstens teilweise von der Virulenz der Leptospiren abhängig zu sein. Darüber wird in Kapitel V eingehender berichtet werden.

Die Leptospiren sind im allgemeinen wenig widerstandsfähig. Ein Eintrocknen ihrer Umgebung überleben sie nicht, ebenso gehen sie in auch nur schwach saurem Milieu, z. B. menschlichem Urin mit saurer Reaktion, rasch zugrunde. Erhitzen auf 56°C tötet sie in der Regel innerhalb von 5 min. Immerhin beobachteten wir kürzlich einen frisch isolierten WEIL-Stamm, der trotz Erhitzen im Wasserbad auf 56°C während 10 min nicht vollständig abgetötet war, sich im Kulturmilieu wie im Meerschweinchenkörper weiter vermehrte, seine vorher hohe Virulenz aber so weit eingebüßt hatte, daß er das Meerschweinchen nicht mehr zu töten vermochte.

Im Gegensatz zur Wärmeempfindlichkeit ertragen die Leptospiren tiefe Temperaturen besser als bisher angenommen wurde. Eigene Versuche haben gezeigt, daß bei einer Abkühlung von ausgewachsenen Kulturen auf $+2^{\circ}\text{C}$ die Leptospiren auch nach 14 Tagen noch gut beweglich, lebens- und vermehrungsfähig sind. BRUNNER hat Leptospirenkulturen sowie leptospirenhaltiges Organmaterial bei -30°C eingefroren. Wenn bis zum Wiederauftauen nur wenige Minuten verstrichen, wurde ein kleiner Anteil der Leptospiren wieder beweglich und vermehrungsfähig. Dauerte das Einfrieren aber über Stunden, waren anschließend keine lebenden Leptospiren mehr nachweisbar, welche Feststellung durch kulturelle und Tierversuche erhärtet wurde. Diese Resultate überdecken sich mit früheren Feststellungen von UHLENHUTH und von KATHE und RIMPAU, wonach Leptospiren eine kurzdauernde Abkühlung auf -18°C bzw. auf -10°C ertragen sollen. Man nimmt an, daß die Leptospiren in der freien Natur nicht überwintern können, und deren Existenz an die zugehörigen Wirtstiere gebunden ist. Diese Annahme wird vor allem auch durch epidemiologische Daten gestützt.

Es ist unter anderem darüber diskutiert worden, ob pathogene Leptospiren in Gewässern der freien Natur vermehrungsfähig seien, oder ob sie sich dort, von Wirtstieren ausgeschieden, ohne weitere Vermehrung einfach eine Zeitlang zu halten vermögen. Unseres Erachtens kann man diese Frage nicht generell beantworten. Die Vermehrungsmöglichkeit in freien Gewässern hängt unter anderem ab vom pH des Wassers, von den darin gelösten Mineralien, von der Temperatur u. dgl., so daß uns unter gewissen Umständen eine Vermehrung ohne weiteres möglich erscheint. CHANG, BUCKINGHAM und TAYLOR haben darüber präzise Mitteilungen gemacht und unter anderem nachgewiesen, daß sich aus Kulturmateriel stammende WEIL-Leptospiren bis 3 Monate in natürlichen Wassern am Leben erhalten können.

Direkte Fortpflanzungsprobleme wie auch differenziertere genetische Fragen wurden bis anhin bei den Leptospiren wenig erforscht. Durch Beobachtung ist sichergestellt, daß sich die Leptospiren infolge Querteilung vermehren. Nach allgemeinen Beobachtungen und speziellen diesbezüglichen Untersuchungen VRŠANSKY'S variiert die Dauer des Querteilungsvorganges zwischen weniger als 5 min bis über 1 Std. Längsteilungen wurden nie festgestellt und zahlreiche eigene elektronenoptische Untersuchungen von in Entwicklung begriffenen Leptospirenkulturen ergaben keine Anhaltspunkte für das Vorkommen von Längsteilungsvorgängen.

Die Leptospiren scheinen sich nicht gleichmäßig zu vermehren, indem z. B. innerhalb bestimmter Zeitintervalle nicht regelmäßig Teilungen stattfinden, wie wir dies bei Bakterien gewohnt sind. Wir beobachteten oftmals junge Kulturen, die während mehrerer Tage überhaupt keine Vermehrung erkennen ließen, um dann 2 Tage später dicht ausgewachsen zu sein. Auch hatten wir immer wieder den Eindruck einer Abhängigkeit des Leptospirenwachstums von atmosphärischen Einflüssen. Wiederholt machte uns der eine oder andere Stamm Kultivierungsschwierigkeiten und kurz darauf erhielten wir von anderen Instituten Europas Mitteilung, daß der gleiche Stamm nicht mehr angehe und wir ihn ersetzen möchten.

C. Darstellungsverfahren.

1. Mikroskopische Darstellung.

Mit den für Bakteriendarstellungen allgemein üblichen Färbemethoden lassen sich die Leptospiren nicht sichtbar machen. Man benötigt zu ihrer Darstellung recht intensive und drastische Verfahren. Die Tatsache, daß zur mikroskopischen Sichtbarmachung von Leptospiren wie auch bezüglich der Kulturverfahren eigene Wege beschritten werden müssen, mag mit ein Grund gewesen sein, weshalb das Arbeiten mit Leptospiren in den meisten Laboratorien erst spät Eingang fand und man über das Vorkommen verschiedener, namentlich gut-artiger Leptospiren erst in jüngster Zeit Aufschluß erhielt.

Abgesehen von elektronenoptischen Darstellungen, die uns über den Feinbau der Leptospiren den weitreichendsten Aufschluß geben, lassen sich die Leptospiren am besten lebend und ungefärbt im *Dunkelfeld* beobachten. Dabei kommt vor allem ihre charakteristische rotierende Eigenbewegung vorzüglich zum Ausdruck. Diese ist bei der Beurteilung, ob es sich um wirkliche Leptospiren oder um andere bewegliche Kleinlebewesen handelt, von ausschlaggebender Bedeutung. Bei klarem Medium sind die Leptospiren im Dunkelfeld schon bei einer Vergrößerung von 1:200 ohne weiteres als solche erkennbar. Namentlich beim Suchen nach Leptospiren (Untersuchungsmaterial) ist es von Vorteil, keine zu starke Vergrößerung zu verwenden, um gleichzeitig ein möglichst weites Gesichtsfeld überprüfen zu können.

Eine Sichtbarmachung der lebenden Leptospiren im Hellfeld ist in befriedigender Weise bis jetzt nicht gelungen. Auch das Phasenkontrastverfahren eignet sich zum Arbeiten mit Leptospiren vorläufig nicht, weil diese so dünn sind, daß sie durch den Phasenkontrast der heutigen Konstruktionen zu wenig deutlich zur Darstellung gelangen.

Zum Sichtbarmachen fixierter Leptospiren dienen nachfolgende Verfahren:

- a) *Tuscheverfahren* (Analogon zu Dunkelfeld),
- b) Kombinierte MAY-GRÜNWALD-Färbung nach PAPPENHEIM,
- c) Färbung nach FONTANA (Silberimprägnierungsmethode),
- d) Färbung nach PULCHER,
- e) Färbung nach VAGO,
- f) Färbung nach VRSANSKY (Schnellfärbung),
- g) Darstellung im *Elektronenmikroskop*.

Die detaillierten technischen Angaben über das Vorgehen bei genannten Färbemethoden finden sich im zweiten, technischen Teil dieser Arbeit.

Zu allen mikroskopischen Darstellungen verwendet man vorteilhaft Leptospiren, die sich in einem proteinfreien Medium befinden, z. B. in KORTHOFF-Nährflüssigkeit ohne Serumzusatz. Gilt diese Forderung schon für lichtmikroskopische Präparate, ist sie für elektronenoptische Präparierungen noch in weit höherem Maße von Bedeutung.

2. Kulturverfahren.

Aus dem gleichen Grunde, aus welchem man auf dem Gebiete der Gesamtbakteriologie die Kulturverfahren anwendet, hat man sich bemüht, die Leptospiren in künstlich hergestellten Nährmedien zur Vermehrung und dadurch zur Darstellung zu bringen. Man kann auf diese Weise die Kleinlebewesen dort erfassen, wo sie natürlicherweise in relativ nur geringer Zahl vorkommen, und durch die Weiterkultivierung die einmal vorhandenen Stämme erhalten, einerseits um sie genauer untersuchen und analysieren zu können, andererseits um sie für Immunitätsreaktionen zur Verfügung zu haben.

Die Leptospiren gedeihen nur unter aeroben Bedingungen.

Das heute wohl gebräuchlichste Nährsubstrat ist das nach KORTHOFF benannte. In demselben gelang uns die Erhaltung sämtlicher Leptospirenstämme.

Das KORTHOFF-Medium enthält in Wasser gelöst nebst Pepton eine Reihe mineralischer Substanzen, unter anderem Puffersubstanzen, und $\frac{1}{10}$ Volumen Kaninchenserum. Puffersubstanzen und Kaninchenserum sind nach unseren Erfahrungen die wesentlichsten Bestandteile eines jeden Leptospirennährbodens.

Nährmedien anderer Zusammensetzung, die jedoch nicht alle in gleichem Maße universell zu gebrauchen sind, figurieren unter der Bezeichnung:

Nährmedium nach REITER-RAMME,

Peptonnährmedien nach VERVOORT und WOLFF (SCHÜFFNER),

NOGUCHIS halbfester Nährboden,

FLETSCHERS Nährboden für Blutkulturen,

ZUELZERS Eiernährboden (speziell geeignet zur Isolierung von Wasserleptospiren).

Die Vorschriften über Nährbodenzusammensetzung sowie genauere, die Herstellung betreffende Angaben finden sich im zweiten, untersuchungstechnischen Teil dieser Arbeit.

Die Leptospiren halten sich in den Nährmedien nicht beliebig lange Zeit. Will man sich Leptospirenstämme erhalten, muß man sie in bestimmten Zeitintervallen regelmäßig auf unverbrauchte, frische Kulturflüssigkeiten überimpfen.

Die Leptospiren können sich in ein und derselben Kulturflüssigkeit nicht beliebig vermehren; die Teilungsvorgänge hören in einer bestimmten Phase auf. Es ist aber nicht so, daß in einer ausgewachsenen Leptospirenkultur die Wachstoffs aufgebraucht wären. Wenn man nämlich aus einer solchen Kultur die Leptospiren abfiltriert und das Kultursubstrat mit frischen Leptospiren beimpft, vermehren sich diese wie in einem noch nie benützten Nährmilieu. Man könnte den Schluß ziehen, daß eine an den Leptospirenkörper gebundene Hemmsubstanz sich auswirken müsse. In Tat und Wahrheit scheinen die gesamten Fortpflanzungsvorgänge weit komplizierter zu sein, als wir dies z. B. bei Bakterien gewohnt sind.

In der Regel halten sich Kulturen in halbfesten (NOGUCHI-)Nährmedien länger als in flüssigen, obwohl die Kulturen in gleich kurzer Zeit ausgewachsen sind. Vermutlich trennen sich im halbfesten Medium Stoffwechselprodukte besser von den an der Oberfläche sich aufhaltenden Leptospiren oder werden durch kolloidale Vorgänge besser gebunden.

Beim Überimpfen von Kulturen genügt es merkwürdigerweise nicht, nur wenige Leptospiren in das neue Nährsubstrat zu bringen. Um dichte Kulturen zu erhalten, muß man $\frac{1}{10}$ Volumen alte Kultur in das frische Milieu überimpfen. Ob nur einzelne der Kulturleptospiren vermehrungsfähig, oder ob für eine Vermehrung irgendwelche Wechselbeziehungen notwendig sind, entgeht vorläufig unserer Kenntnis.

Das Kulturverfahren hat gegenüber dem Leptospirennachweis im Tierversuch den großen Vorteil, daß man in erprobten Nährmedien alle Leptospirenarten annähernd gleich gut zur Vermehrung bringen kann. Wohl verlangen einzelne Arten subtilere Behandlung und vermehren sich langsamer als andere: prinzipielle Unterschiede bestehen aber nicht, so daß mit einer Nährbodenart auszukommen ist.

Nachteilig wirkt sich das Kulturverfahren nur aus auf die Erhaltung der Virulenz der Leptospiren. Frisch isolierte Leptospiren werden schon nach wenigen Kulturpassagen avirulent und die einmal verlorene Virulenz ist fast nicht mehr zurückzugewinnen. Dieser relativ sehr rasch eintretende Virulenzverlust wurde von vielen Experimentatoren zu wenig berücksichtigt, ist aber bei allen biologischen Versuchen, die sich nicht nur mit der antigenen Struktur der Leptospiren befassen, von größter Bedeutung.

CHANG hat empfohlen, zur Erhaltung der Virulenz im Kulturverfahren halbfeste Nährmedien (NOGUCHI) zu verwenden und diesen einen Meerschweinchenleberextrakt beizufügen. Genannter Autor experimentierte aber nur mit *L. icterohaemorrhagiae* und *L. canicola*, nicht aber mit Erregern unserer benignen Leptospiren.

Leptospirentoxine lassen sich *in vitro* nicht nachweisen. Man kann empfänglichen Versuchstieren große Mengen sowohl von abgetöteten Leptospiren als auch von Kulturfiltraten der *L. icterohaemorrhagiae* injizieren, ohne daß (abgesehen von Antikörperbildung) die geringste Reaktion festzustellen wäre. Die Leptospiren scheinen erst im Verein mit lebenden Wirtszellen imstande zu sein, toxische Produkte zu liefern.

3. Tierversuche.

Die diagnostische Verwendung von Versuchstieren, d. h. von lebenden Nährsubstraten stößt deshalb auf Schwierigkeiten, weil wir kein Versuchstier besitzen, für welches alle in Frage kommenden Leptospirenarten obligat pathogen sind. Die meisten Leptospirenarten sind höchstens für einzelne Versuchstiere bedingt pathogen und so kann man eigentlich mit Hilfe des Laboratoriumsterversuchs allein nur 2 Arten einwandfrei nachweisen: die *L. icterohaemorrhagiae* sowohl im jugendlichen Meerschweinchen als auch im syrischen Goldhamster und die

L. canicola allein im syrischen Goldhamster. Alle anderen Leptospirenarten sind für die bekannten Laboratoriumstiere nur fakultativ, schwach oder gar nicht pathogen, so daß aus resultatlos verlaufenden Tierversuchen keine bindenden Schlüsse gezogen werden dürfen.

a) *Meerschweinchen, zum Nachweis der L. icterohaemorrhagiae.* Will man aus Untersuchungsmaterial mit Hilfe des Tierversuches die *L. icterohaemorrhagiae* nachweisen, injiziert man das Material einem womöglich jugendlichen Meerschweinchen intraperitoneal. Sind WEIL-Leptospiren vorhanden, kommen diese im Wirtsorganismus zur Entwicklung. Das Tier erkrankt nach wenigen Tagen mit ikterischen Symptomen und geht nach 6—10 Tagen zugrunde. Bei der Sektion sind vor allem der allgemeine starke Ikterus und Erscheinungen hämorrhagischer Diathese in die Augen springend. Die Leptospiren lassen sich in der Peritonealhöhle sowie in sämtlichen Organen, vor allem in der Leber, in großer Zahl nachweisen. Unter sterilen Kautelen entnommene Organstücke kann man nun kulturell weiter verarbeiten.

Will man die *L. icterohaemorrhagiae* in Gewässern nachweisen, empfiehlt es sich, Meerschweinchen ventral zu depilieren, die Bauchhaut zu scarifizieren und sie in diesem Zustande dem zu untersuchenden Wasser auszusetzen.

Injiziert man einem Meerschweinchen nicht mehr virulente WEIL-Leptospiren, kommen diese in der Peritonealhöhle ebenfalls zur Vermehrung und man kann dieselben dort, wie namentlich auch in der Leber während 10—14 Tagen nachweisen. Das Tier erkrankt nicht, bildet aber trotzdem artspezifische Antikörper. Mit Hilfe längerer Passagen durch jugendliche Meerschweinchen (Überimpfen von leptospirenhaltiger Lebersuspension auf frische Versuchstiere in Abständen von 8—10 Tagen) hat man versucht, avirulent gewordene Stämme wieder virulent zu machen. Eigene Versuche haben uns gezeigt, daß dies nur in seltenen Fällen befriedigend gelingt, und daß sich die einmal verlorene Virulenz in der Regel nicht mehr zurückgewinnen läßt.

b) *Goldhamster, zum Nachweis der L. canicola und der L. icterohaemorrhagiae.* Ähnlich dem Vorgehen mit Meerschweinchen bei WEIL-Infektionen ist dasjenige beim Suchen nach *Canicolaleptospiren*. An Stelle des Meerschweinchens verwendet man den syrischen Goldhamster, *Cricetus auratus*. Geht bei diesem die Infektion an, entsteht nach wenigen Tagen eine massive Leptospirensepticämie und man findet die Leptospiren in Blutpräparaten in großen Mengen (1 Tropfen Blut in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmen und im Dunkelfeld betrachten, oder Blutausstriche herstellen und diese nach einer der erwähnten Methoden färben). Das Versuchstier zeigt äußerlich keine ohne weiteres erfaßbaren Krankheitssymptome, geht aber zwischen dem 6. und 9. Tag post infectionem — bei massiver Infektion schon am 4.—5. Tag — ziemlich plötzlich unter klonischen Krämpfen zugrunde. Bei der Autopsie findet man keinen Ikterus, sondern vor allem ausgeprägte Blutungen in verschiedenen Organen, namentlich im Nierenparenchym, den Lungen, im Gehirn und zum Teil auch in der Darm-schleimhaut. Avirulente *Canicolakulturen* verhalten sich beim Goldhamster wie avirulente WEIL-Kulturen beim Meerschweinchen.

Der Goldhamster geht ebenfalls zugrunde, wenn man ihn mit *L. icterohaemorrhagiae* infiziert, zeigt aber weder einen typischen Ikterus noch die bei der *Canicolainfektion* erwähnten Symptome. Auch Weil-infiziert tritt aber beim

Goldhamster eine so massive Septicämie auf, daß man die Leptospiren in großer Zahl in direkten Blutaussstrichen nachweisen kann.

Will man also in einem zu untersuchenden Material nach WEIL- oder Canicola-Leptospiren fahnden, injiziert man das Material entweder einem Meerschweinchen und einem Goldhamster und zieht aus dem Ausgang dieser Tierversuche den entsprechenden Schluß, oder man injiziert das Material nur Goldhamstern und verarbeitet, bei Angehen der Infektion, die Organe derselben kulturell, um auf diese Weise die Art der Leptospiren sicherzustellen.

c) *Nachweis von Leptospiren, die für Versuchstiere nur beschränkt pathogen sind.* Die meisten in Untersuchungsmaterial sich aufhaltenden, also noch virulenten Leptospiren sind für einzelne Versuchstiere, vor allem für das Meerschweinchen, so weit pathogen, als sie in demselben eine vorübergehende Septicämie verursachen und zu einer anschließenden Leptospirurie führen.

Man kann demzufolge den Versuchstieren Untersuchungsmaterial injizieren, die Körpertemperatur kontrollieren und bei auftretendem Fieber mit steril entnommenem Herzblut Kulturen anlegen. Man kann ferner in der Rekonvaleszenz Urin bzw. Nierengewebe im Dunkelfeld auf Leptospiren untersuchen und nötigenfalls auch mit diesen Materialien wiederum Kulturen anlegen.

Durch den direkten Leptospirennachweis im Urin ist es möglich, Leptospiren (allerdings ohne genaue Artbestimmung) auch dann festzustellen, wenn aus äußeren Gründen die Anwendung der Kulturmethode nicht in Frage kommt.

Das Fehlen eines für alle Leptospirenarten universell brauchbaren Versuchstieres bedeutet ein untersuchungstechnisches Handicap, indem man namentlich bei mischinfizierten Materialien wegen der rascheren Vermehrung der Begleitkeime mit Hilfe der Kulturmethode Mühe hat, die Leptospiren zur Darstellung zu bringen.

Daß sich die Albinomaus unter gewissen Voraussetzungen als Versuchstier zur Eruierung einer 1949 in Israel neu aufgetretenen Leptospirose (OLEJNIK und SHNEYERSON) eignet, wird in Kapitel III B 16 eingehend erwähnt.

Nachdem der Tierversuch allein (ohne Kombination mit dem Kulturverfahren) — von den erwähnten Ausnahmen abgesehen — zu diagnostischen Zwecken ausfällt, benützt man andererseits Meerschweinchen und Kaninchen als Bakterienfilter, wenn es gilt, Begleitkeime aus mischinfizierten Leptospirenkulturen zu eliminieren. Man injiziert dem Versuchstier die mischinfizierte Kultur intraperitoneal und legt nach einer Zeit von 15 min bis 1 Std mit steril entnommenem Herzblut frische Kulturen an. Des weiteren eignen sich Kaninchen vorzüglich zur Herstellung aller Immunsereen; indem beim Kaninchen eine fast reinspezifische und hochtitrige Antikörperbildung eintritt.

III. Klassifizierung der Leptospiren und Einteilung derselben in Species.

A. Allgemeine Klassifizierung.

Bis anhin wurden die Leptospiren allgemein als eine Untergattung der Gattung *Spirochaeta* angesprochen, so daß deren Klassifizierung innerhalb dieses Genus wie folgt lautet:

Genus: *Spirochaeta*.

Subgenus: *Borrelia* (Beispiel: species *B. recurrentis*).

Subgenus: *Treponema* (Beispiel: species *T. pallidum*).

Subgenus: *Leptospira* (Beispiel: species *L. icterohaemorrhagiae*).

Die meisten Autoren, welche mit Spirochäten sich beschäftigt haben, tendieren dahin, dieselben weder den Protozoen noch den Bakterien (Schizomyceten) zuzuteilen, sondern ihnen eine selbständige Mittelstellung zwischen den beiden genannten Gruppen zukommen zu lassen.

Dieser zugegebenerweise etwas gefühlsmäßig erfolgten, sicherlich aber viel Wahres bergenden Klassifizierung trägt auch die sog. natürliche Systemübersicht über die Erreger von Infektionskrankheiten des Menschen von DOERR Rechnung, welche die Spirochäten wie folgt einordnet:

A. Protozoen.

B. Fungi (höhere Pilze).

C. „Kernlose“ Protophyten.

1. Schizomyceten (Bakterien).

2. Actinomyceten (Strahlenpilze).

D. *Spirochäten* (die nach der herrschenden Auffassung sowohl von den Protozoen wie von den Protophyten abzutrennen sind).

E. Nicht oder nicht sicher klassifizierbare Organismen (Bartonellen, Rickettsien, Virusarten).

Nach BERGEYS Manuel of Determinative Bacteriology werden die Spirochäten als eigene Ordnung zu den Schizomyceten gezählt — eine Einteilung, für die SCHLOSSBERGER auf Grund von Strukturuntersuchungen des Spirochätenleibes unabhängig von BERGEY ebenfalls eintritt — und die Leptospiren bilden eine eigene Gattung. Eine Gesamtklassifizierung sieht nach BERGEY wie folgt aus:

Klasse (Classis): *Schizomycetes* (NÄGELI).

Ordnung (Ordo) I: Eubacteriales (BUCHANAN).

II: Actinomycetales (BUCHANAN).

III: Chlamydobacteriales (BUCHANAN).

IV: Myxobacteriales (JAHN).

V: *Spirochaetales* (BUCHANAN).

Familie (Familia) I: Spirochaetaceae (SWELLENGREBEL).

II: Treponemataceae (SCHAUDINN).

Gattung (Genus) I: *Borrelia* (SWELLENGREBEL).

II: *Treponema* (SCHAUDINN).

III: *Leptospira* (NOGUCHI).

Die Gattung oder Untergattung „*Leptospira*“ (diese Differenz ist ja wohl nicht mehr als ein Wortspiel) läßt sich weiter unterteilen. Hält man sich an den Internationalen bakteriologischen Nomenklaturkodex (BLOCH), muß man die nächst niedrigere Stufe als *Artspecies* bezeichnen, so daß bei der notwendigen weiteren Unterscheidung nicht mehr, wie bis anhin gebräuchlich, von Leptospirentypen, sondern von Leptospirenarten die Rede sein sollte. Nach unserem Dafürhalten darf man die neue Nomenklatur bedenkenlos übernehmen; man wird aber vermutlich noch lange Zeit auf beide Ausdrücke — Typ wie Art — stoßen und dabei wissen müssen, daß mit beiden Ausdrucksweisen dasselbe gemeint ist. Im übrigen war schon SCHÜFFNER der Auffassung, daß man von Species sprechen dürfe, sofern folgende Kriterien ganz oder zum Teil erfüllt seien:

Eine selbständige Leptospirenspecies sollte sich von anderen unterscheiden durch:

1. Eigene Antigenstruktur,
2. Träger- (Wirts-) Tiere und damit verbunden epidemiologische Daten,
3. klinische Krankheitscharakteristica,
4. Verhalten in Versuchstieren,
5. geographische Verteilung.

In der Laboratoriumspraxis haben wir die einzelnen Leptospirenarten in erster Linie auf Grund ihres antigenen Verhaltens voneinander zu unterscheiden versucht und sind dabei fast ausnahmslos zum Ziele gekommen. Die Antigenstruktur ist wohl die einzige, für jede Leptospirenart konstant bleibende und einwandfrei nachzuweisende Eigenschaft, während die sub 2—5 erwähnten Kriterien nur teilweise verwendet werden können. Eine und dieselbe Leptospirenart kann beispielsweise in mehreren Wirtstieren hausen und ein und dasselbe Wirtstier kann von mehreren Leptospirenarten befallen werden. Ebenso können verschiedene Arten analoge, klinisch voneinander nicht unterscheidbare Krankheitsbilder erzeugen und die gleiche Leptospirenart kann so ziemlich überall auf unserem Planeten vorkommen, sofern entsprechende Träger dort vorhanden sind. Die Prüfung des Verhaltens in Versuchstieren kommt nur für einzelne Leptospirenarten in Frage, weil — wie schon erwähnt — für eine ganze Reihe von Leptospiren überhaupt keine geeigneten Versuchstiere bekannt sind.

Auf Grund systematischer gekreuzter serologischer Untersuchungen haben wir die nachfolgenden, in Tabelle 1 zusammengestellten, in unserem Besitze sich befindlichen Leptospirenarten voneinander unterscheiden können.

B. Unterteilung in Arten (Species).

Tabelle 1. Die bekanntesten und von uns geprüften Leptospirenarten.

Nr.	Leptospirentyp	Krankheit beim Menschen	Bekannte tierische Träger	Entdeckt		Vorkommen nachgewiesen				
				Jahr	Autor	Europa	Asien	Australien	Amerika	andere
1	<i>L. grippotyphosa</i>	Feldfieber, Sumpf-, Ernte-, Wasserfieber	<i>Microtus arvalis</i> (Feldmaus), <i>Apodemus flavicollis</i> (Gelbhalsmaus), <i>Micromys minutus</i> (Zwergmaus), <i>Mus spicilegus</i> (Ährenmaus), <i>Apodemus agrarius</i> (Brandmaus), <i>Eutamias glareolus</i> (Rötelmaus), <i>Apodemus sylvaticus</i> (Waldmaus)	1928	TARASSOFF	+	+	+	+	+
				1938	RIMPAU, SCHLOSS- BERGER u. KATHE	+	+	+	+	+
2	<i>L. bovis palaestiniensis</i> , wahr- scheinlich iden- tisch mit <i>L. ictero- haemoglobinuriae</i> <i>bovis</i> , möglicher- weise identisch mit <i>L. haemo- globinurica</i>	Infektiöse Gelb- sucht beim Rind, auf den Menschen übertragbar	Rind, Büffel	1946	BERNKOPF	+	+	+	+	+
				1918	SCHÜFFNER	+	+	+	+	+

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

Leptospirentyp	Krankheit beim Menschen	Bekannte tierische Träger	Entdeckt		Vorkommen nachgewiesen				
			Jahr	Autor	Europa	Asien	Australien	Amerika	Afrika
<i>L. hebdomadis</i>	Japanisches 7-Tage-Fieber, Nanukayami Akiyami B	<i>Microtus montebelli</i>	1916	IDO, ITO, WANY	—	+	—	—	—
<i>L. sejroe</i>	Feldfieber	<i>Mus spicilegus</i> (Ährenmaus), <i>Apodemus sylvaticus</i> (Waldmaus), <i>Apodemus flavicollis</i> (Gelbhalsmaus)	1938	BORG PETERSEN	+	—	—	—	—
<i>L. saxkoebing</i>	Feldfieber	<i>Apodemus flavicollis</i> (Gelbhalsmaus), <i>Apodemus sylvaticus</i> (Waldmaus)	1942	BORG PETERSEN	+	—	—	—	—
<i>L. australis</i> (-A)	Rohrzuckerfieber	<i>Epimys rattus cul- morum</i>	1937	LUMLEY	+	+	+	—	—
<i>L. pomona</i>	Schweinehüter- krankheit	Schwein	1936	CLAYTON, DERRICK u. CILENTO	+	+	+	—	—
<i>L. bovis</i> New York	Infektiöse Septic- ämie beim Rind, Hämoglobinurie, hämorrhagische Mastitis	Rind	1946	BAKER u. LITTLE	—	—	—	+	—
<i>L. mitis</i> * (JOHNSON)	Schweinehüter- krankheit	Schwein	1940	JOHNSON	+	—	+	—	—
<i>L. autumnalis</i>	Herbstfieber, Hasamiyami	<i>Microtus montebelli</i> , <i>Apodemus speciosus</i> , <i>Epimys rattus alexandrinus</i> (ägyptische oder Dachratte), <i>Epimys rattus brevicaudatus</i>	1925	KOSHINA, SHIOZAWA u. KITAYAMA	—	+	—	—	—
<i>L. salinem</i> syn. <i>L. pyrogenes</i>	Kurzfristiges Spirochätenfieber	<i>Epimys rattus brevicaudatus</i>	1924	BAERMANN, VERVOORT	—	+	—	—	—
<i>L. ballum</i>		<i>Mus spicilegus</i> Laboratoriumsmaus	1944	BORG PETERSEN	+	—	—	—	—
<i>L. canicola</i>	Canicolafieber Hund: Stuttgarter Hunde- seuche	Hund	1933	KLAREN- BEEK u. SCHÜFFNER	+	+	+	+	—

* Die *L. mitis* (JOHNSON) wird voraussichtlich in *L. hyos* umgetauft werden.

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

Nr.	Leptospirentyp	Krankheit beim Menschen	Bekannte tierische Träger	Entdeckt		Vorkommen nachgewiesen			
				Jahr	Autor	Europa	Asien	Australien	Amerika
14	L. ictero- haemorrhagiae	WEILsche Krank- heit	Epimys norvegicus (Wanderratte), Epimys rattus (Hausratte), Epimys rattus alexandrinus (ägyptische oder Dachratte), weiße Laboratoriums- ratte	1915	INADA u. IDO, UHLEN- HUTH u. FROMME	+	+	+	+
15	L. bataviae	Indonesische WEILsche Krank- heit	Epimys norvegicus (Wanderratte), Epimys rattus diardii, Epimys rattus brevicaudatus, Micromys minutus soricinus (Zwergmaus), Apodemus sylvaticus (Waldmaus)	1925	WALCH	-	-		

Anhang zu Tabelle 1.

Übersicht über die als Leptospirenträger vermerkten mäuseartigen Tiere.

Familie Muridae = mäuseartige Tiere		
Unterfamilie	Gattung	Art
I. Microtinae (Wühlmäuse). Schwanz länger als Kopf, aber kürzer als Rumpf. Schnauze stumpf, Ohren treten wenig oder nicht aus dem Pelz. Schwanz dicht und kurz behaart (ausgenommen Bisamratte).	Arvicola	A. sherman (große Wühlmaus), (zahlreiche Unterarten),
	Microtus oder	M. arvalis (Feldmaus),
	Pitymys	M. montebelli (Japan).
	Evotomys	E. glareolus (Rötelmaus, Waldwühlmaus).
II. Cricetinae (Hamster). Schwanz kürzer als Kopf.	Cricetus	C. auratus (Goldhamster).
III. Murinae (Mäuse im engeren Sinne). Schwanz so lang oder länger als der Körper, spärlich behaart mit sichtbaren Schuppenringen. Schnauze zugespitzt. Ohren ragen aus dem Pelz.	Epimys	E. norvegicus (Wanderratte),
		E. rattus (Hausratte),
		E. rattus alexandrinus (Dachratte oder ägyptische Ratte),
		E. rattus culmorum (Australien),
		E. rattus brevidaudatus (Indonesien), (Feldratte).
	Mus Apodemus	E. rattus diardii (Batavia).
		M. spicilegus (Ährenmaus).
		M. sylvaticus (Waldmaus),
	Micromys	A. speciosus (Japan),
		A. agrarius (Brandmaus), A. flavicollis (Gelbhalsmaus). M. minutus (Zwergmaus).

Bei der Kenntnisnahme der als Leptospirenträger angegebenen Muriden ist zu berücksichtigen, daß die genaue Artbestimmung der Mäuse relativ schwierig und höchstens von spezialisierten Fachleuten genau durchgeführt werden kann und daß das System der Mäuseeinteilung zur Zeit in einem Umbruch begriffen ist, weshalb oben vermerktes Schema möglicherweise nur kurzfristige Gültigkeit hat. Den Zweck dürfte dasselbe trotzdem erfüllen, indem es nicht mehr als einen Überblick vermitteln will.

Seltenere Leptospirenarten, die von uns nicht untersucht werden konnten und in obiger Zusammenstellung auch nicht berücksichtigt und klassiert wurden, sind:

16. *Neue Leptospirenart in Israel*. 1950 beschrieben OLEJNIK und SHNEYERSON eine 1949 in Israel isolierte neue Leptospirenart. Dieselbe soll in antigener Beziehung der *L. grippotyphosa* und *bovis palaest.* nahe stehen, sich jedoch in verschiedenen anderen Beziehungen von denselben unterscheiden.

Von Juni 1949 bis April 1950 wurden über 1000 menschliche Erkrankungen beobachtet, die zum Teil schwer verliefen (2% Mortalität) und als Hauptsymptome Hämaturie, Ikterus und Meningitis dokumentierten.

Zu Vieh bestand keine direkte Beziehung, dagegen wurden die Leptospiren oder deren Antikörper bei 70% im Lande vorkommender und untersuchter Nager (Mäuse und Ratten) vorgefunden.

Leptospirenfreie Feldmäuse, die mit dem Leptospirenstamm intraperitoneal infiziert wurden, schieden die Leptospiren vom 8. Tage an in großen Mengen mit dem Urin aus, ohne selbst krank zu scheinen. Drei Wochen alte Albinomäuse, die ebenfalls intraperitoneal infiziert wurden, machten in den ersten 4 der Infektion folgenden Tage eine Septicämie durch, um die Leptospiren vom 6.—7. Tage an ebenfalls in großen Mengen durch die Nieren auszuscheiden. Nach genannter Feststellung wurden diese Mäusetierversuche in größerem Umfang und mit Erfolg zu diagnostischen Erhebungen angewandt.

Nach Angabe der Autoren soll sich der neue Leptospirenstamm infolge dieses Ausgeschiedenwerdens durch die Mäusenieren von der *L. grippotyphosa* und der *L. bovis palaest.* unterscheiden lassen.

Berücksichtigt man die antigenen Eigenschaften der angeblich neuen Leptospirenart und das durch sie hervorgerufene Krankheitsbild, kann man sich nicht ohne weiteres des Eindrucks erwehren, daß es sich bei dem neuen Stamm um die alte *L. bovis palaest.* handelt, die sich durch Adaptation an Nagetiere in ihren tierpathogenen Eigenschaften teilweise geändert hat.

17. *L. icterohaemoglobinurica*, 1918 isoliert durch SCHÜFFNER auf Sumatra. Sicher nicht identisch mit der *L. icterohaemorrhagiae* (WEIL). Verursacht beim Menschen schweres ikterisches Krankheitsbild mit Hämoglobinurie; Schwarzwasserfieber (blackwater fever) genannt. Leptospiren möglicherweise identisch mit *L. icterohaemoglobinuriae bovis* (MINCHIN).
18. *L. andaman A*, 1931 isoliert durch TAYLOR und GOYLE bei Reisfeldarbeitern auf den Andamanen. Klinisch sehr verschieden schweres Krankheitsbild, teils ikterisch, teils anikterisch. Tierischer Träger unbekannt.
19. *L. australis B*, Stamm Zaroni. Es soll sich um einen „unvollständigen Biotyp“ der *L. pyrogenes* syn. *Salinem* handeln, ein analoges Krankheitsbild verursachend.
20. *L. Gent*, 1929, isoliert durch BESSEMANS und THIRY bei einem Großteil von weißen Mäusen in Gent, möglicherweise identisch mit *L. ballum*.
21. Stamm DW—A und DW—W, isoliert 1937 durch TARASSOFF und KIKTENKO bzw. 1939 durch NIKOLAJEFF. Stamm DW—A soll ein feldfieberähnliches Krankheitsbild hervorrufen, während der Stamm DW—W die Leptospirose der Silberfuchse verursacht, also wahrscheinlich in die Canicolagruppe gehört.
22. *L. javanica*, 1937 isoliert durch SARDJITO, MOCHTAR und WIRASMO aus Nieren von Feldratten (*rattus brevicaudatus*) auf Java. Angeblich selbständige Art.

23. *L. R 173*, 1939 isoliert durch SARDJITO und MOCHTAR, ebenfalls aus Nieren von Feldratten.
24. *L. schüffneri*, syn. *L. cynopteri* A, 1938 isoliert durch COLLIER und ESSEVELD auf Java, verursacht Weil-ähnliche Krankheit, als *Cynopterus-fever* A (Fledermausfieber) bezeichnet. Tierischer Träger: *Cynopterus* spec. (Fledermaus).
25. *L. cynopteri* (B), 1939 isoliert durch COLLIER und MOCHTAR aus Fledermausniere. Keine menschlichen Erkrankungen festgestellt.

Des weiteren sind folgende, nur einzeln isolierte und unseres Wissens nicht vergleichsweise untersuchte Stämme beschrieben worden:

In Indonesien (nach COLLIER):

26. *L. benjamini*, isoliert durch WOLFF in Sumatra. VAN RIEL fand 1946 als dessen unvollständigen Biotyp den afrikanischen Stamm Mukungilwa.
27. *L. djasimani*, 1939 isoliert durch KOTTER von einer ikterischen Erkrankung in Sumatra.
28. *L. naami*, isoliert durch WOLFF bei einem tödlichen Fall von Ikterus in Sumatra.
29. *L. sarmini*, 1939 isoliert durch KOTTER in Sumatra bei Ikterus, hämorrhagischer Diathese, mit Ausgang in Heilung.
30. *L. sentoti*, isoliert durch WOLFF bei tödlich verlaufenem Ikterus in Sumatra.
31. *L. wolffi*, isoliert als Stamm Nr. 3705 durch WOLFF in Sumatra.
32. *L. medanensis*, isoliert durch WOLFF 1936. Träger: Hund.
33. *L. semaranga*, isoliert 1939 durch SARDJITO. Träger: *Rattus brevicaudatus*.

In Indochina wurden folgende zwei neue Species nachgewiesen:

34. *L. kebleri*, 1937 isoliert durch VAUCEL bei tödlich verlaufenem ikterischem Fall. Es wurden 3 serologisch positive Patientenserum, 2 bei leichtem Ikterus, 1 bei Hämoglobinurie, vorgefunden.
35. *L. vauceli*, der sog. Stamm Tuyen Quang, 1937 durch VAUCEL von anikterischem Fall isoliert.

In Afrika entdeckte VAN RIEL in der Gegend des Kivusees (Zentralafrika) zwei neue, wahrscheinlich selbständige Stämme:

36. *L. butembo*, 3mal kulturell bei Menschen gefunden; 2 serologisch-positive Hundebefunde.
37. *L. kabura*, 2mal kulturell bei Menschen gefunden.

VAN RIEL sah 1936—1945 364 menschliche Erkrankungen und konnte 18mal Leptospiren isolieren. Er untersuchte 29 Seren mit verschiedenen Leptospirenarten, die restlichen nur mit einem, eventuell zwei Stämmen. Es wurden insgesamt 7 verschiedene Typenerkrankungen beschrieben, zwei davon als neue Species gedeutet. Nachprüfungen von anderer Seite liegen jedoch nicht vor. Auch standen VAN RIEL nicht sämtliche, heute bei uns diagnostisch verwendete Leptospirenarten zur Verfügung.

VAN RIEL reiht die von ihm kulturell oder serologisch genau untersuchten Fälle in 8 Gruppen ein:

1. Gruppe *Nzirandukola*, angeblich identisch mit *L. grippotyphosa*, jedoch meerschweinchenpathogen, bei Menschen mit Ikterus verlaufend; nach unserem Dafürhalten eher übereinstimmend mit *L. bovis palaestinensis*.
2. Gruppe *Kaoma*, identisch mit *L. bataviae*.
3. Gruppe *Mukungilwa*, inkompletter Biotyp von *L. benjamini*.
4. Gruppe *Butembo*, neuer Typ.
5. Gruppe *Kabura*, neuer Typ.
6. Gruppe *Kamituga*, identisch mit *L. congo* belge, der *L. canicola* nahestehend.

7. Gruppe *Bofani*, Erreger zwischen *L. canicola* und *L. icterohaemorrhagiae* stehend.

8. Gruppe *Ndambari*, Erreger ähnlich wie *L. icterohaemorrhagiae* (vom Autor als *Paraicterohaemorrhagiae* bezeichnet). Tierisches Reservoir eine Maus: *Arvicantha abessinicus*; außerdem Hunde.

In Argentinien wurden folgende 3 Arten gefunden:

38. *L. bonariensis*, 1943 durch SAVINO und RENNELLA von grauen Ratten isoliert.
39. *L. suis*, isoliert von Schweinen. 1944 menschliche Epidemie in Alejandro (Cordoba) und in Tandil. 9,2% der Fälle wiesen Ikterus auf.
40. *L. hyos*, isoliert 1944 von SAVINO und RENNELLA in Argentinien. Tierische Träger: Schwein, Pferd.

Gemäß Nachprüfung durch BABUDIERI ist die *L. bonariensis* eine *L. icterohaemorrhagiae*, die *L. suis* eine *L. pomona* und die *L. hyos* eine *L. mitis* (JOHNSON).

Wasserleptospiren: siehe Sonderkapitel VIII.

Aus den vorliegenden Zusammenstellungen ist ersichtlich, daß Leptospiren und Leptospirenkrankungen auf allen Erdteilen unseres Planeten festgestellt worden sind. Alle diese Leptospiren besitzen viele gemeinsame Eigenschaften. Das Allgemeingültige ist in Kapitel II festgehalten worden und es ist damit der zu Beginn der Leptospirenentdeckungen vorherrschenden unitarischen Auffassung, soweit dies heute noch möglich ist, Gerechtigkeit widerfahren.

Trotz des Bestrebens, möglichst viel auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen und das Leptospirenproblem nicht komplizierter werden zu lassen, als unbedingt notwendig ist, kommt man nicht darum herum, die Gesamtheit der Leptospiren zu unterteilen und eine ganze Anzahl verschiedener Species abzugrenzen. Diese Unterteilung, die hauptsächlich auf Grund antigener Eigenschaften erfolgt, hat nicht nur theoretischen Charakter. Ausgangspunkt für die Leptospirenuntersuchungen waren ja schließlich die Leptospirenkrankungen. Diese sind aber recht verschiedenartig in bezug auf Symptome, Verlauf, Prognose und Epidemiologie, und mit epidemiologischen Merkmalen stehen unter anderem rechtliche Fragen (Berufskrankheiten mit Versicherungsansprüchen) in direktem Zusammenhang.

Die Konstanz der einzelnen, für eine Species charakteristischen Eigenschaften kann heute, nachdem man viele Stämme über mehrere Jahrzehnte beobachten konnte, im großen und ganzen als gesichert anerkannt werden. Daß an der Konstanz der Artspezifität eine Zeitlang gezweifelt wurde, ist begreiflich, nachdem es 1921 ZUELZER scheinbar gelang, durch über 1 Jahr fortgesetzte Kulturpassagen Wasserleptospiren in WEIL-Leptospiren umzuwandeln und nachdem 1926 auch UHLENHUTH und GROSSMANN berichteten, den Wasserstamm „Erlangen“ in einen pathogenen WEIL-Stamm umgewandelt zu haben. UHLENHUTH war aber schon damals der Auffassung, daß eine solche Umwandlung als eine seltene Ausnahme zu betrachten sei.

Wir selbst machten folgende merkwürdige Beobachtung: Am 7. 10. 1949 kultivierten wir aus dem Blute eines auswärtigen Patienten, bei dem die klinische Diagnose „Schweinehüterkrankheit“ lautete, einen Leptospirenstamm. Dieser Stamm wurde mit allen unseren artspezifischen Immunseren geprüft und erwies sich eindeutig als *L. mitis* (JOHNSON). Der Stamm wurde wie die übrigen Laboratoriumsstämme regelmäßig auf KORTHOFF-Nährmedien weiter überimpft. Im Mai 1950 mußten wir feststellen, daß der betreffende Stamm

einwandfreien Pomonacharakter aufwies. Unsere erste Überlegung ging dahin, daß in der Zwischenzeit beim Überimpfen eine Verwechslung vorgekommen sei. Wir haben daraufhin sämtliche Stämme geprüft und alle übrigen zeigten ihren angestammten bzw. vermerkten Artcharakter.

Infolge fehlender Zwischenkontrollen ist es uns nachträglich nicht mehr möglich, zur Frage einer eventuellen Umwandlung von einem Mitis in einem Pomonastamm eindeutig Stellung zu nehmen. Es schien uns trotzdem angezeigt, auf dieses von uns beobachtete Vorkommnis hinzuweisen.

Kürzlich berichtete SCHLOSSBERGER über „gerichtete Mutationen bei Leptospiren“. Gestützt auf Pneumokokken- (GRIFFITH, AVERY) und Colibacillenversuche (BOIVIN, DELAUNAY, VENDRELY und LEHOULT) hielt es SCHLOSSBERGER für möglich, durch Einwirkung der desoxyribonucleinsäurehaltigen Leibessubstanz eines Leptospirenstammes Mutationsvorgänge bei einem anderen, verwandten Leptospirenstamm hervorzurufen. So gelang es „nach Injektion eines aus lebenden Spirochäten des wenig virulenten Stammes Verdun der *L. icterohaemorrhagiae* und aus abgetöteten Spirochäten eines serologisch davon verschiedenen frisch gezüchteten virulenten Hundestammes St. bestehenden Gemisches in die Bauchhöhle von Meerschweinchen regelmäßig ein dem Typus St. entsprechender virulenter Leptospirenstamm aus dem Bauchhöhlenexsudat zu züchten“.

SCHLOSSBERGER schließt aus dieser Tatsache, daß ebenso wie bei Pneumokokken und Colibacillen auch bei Leptospiren gerichtete Mutationen möglich sind und sagt an anderer Stelle: „Es unterliegt heute keinem Zweifel mehr, daß sprunghafte, von äußeren Einflüssen unabhängig auftretende Änderungen (Mutationen) im Erbbestand einer Bakterienzelle vorkommen können. Soweit diese keine letale Wirkung haben oder einen Rückschritt bedeuten, kann bei geeigneten Umweltbedingungen (Selektion) ein neuer Typ auftreten. Es scheint sich hierbei jedoch unter natürlichen Verhältnissen um sehr seltene Vorkommnisse zu handeln. Sie haben infolgedessen nach den bisherigen Erfahrungen für die praktische Epidemiologie kaum eine Bedeutung.“

Wie aus unserer eigenen Zusammenstellung ersichtlich ist, wurden bis heute mindestens 40 pathogene Leptospirenarten beschrieben. Niemand aber hatte die Möglichkeit, all diese Stämme vergleichend zu prüfen. Daß wir uns namentlich mit Rücksicht auf praktische Bedürfnisse, eine gewisse Beschränkung auferlegen und zumindest die nah verwandten Stämme zusammenfassen sollten, liegt auf der Hand. Die vielen, zum Teil zusammenhanglos beschriebenen Einzelarten erschweren namentlich dem Nichtspezialisten eine klare Übersicht und so hat denn auch dieses Durcheinander von Leptospirenarten bereits zu einer Reaktion gerufen, die — allerdings über das Ziel hinausschießend — wieder einer einseitig unitarischen Auffassung das Wort redet. VAN RIEL hat immerhin nicht unrecht, wenn er sagt: „Nous sommes un peu surpris de la facilité avec laquelle divers auteurs pluralistes baptisent des espèces nouvelles.“

Nach unserem Dafürhalten sollte man im Rahmen internationaler Zusammenarbeit die heute bekannten und vorhandenen Leptospirenarten nach einheitlichen Gesichtspunkten ordnen. Wir sind überzeugt, daß sich die Zahl sicher voneinander abgrenzbarer Species auf ein vernünftiges Maß reduzieren läßt und die von uns bearbeitete Zahl von 15 Arten nicht wesentlich übersteigt.

IV. Die antigenen Eigenschaften der Leptospiren.

A. Die Antigene der einzelnen Leptospirenarten.

Wie im vorhergehenden Kapitel ausgeführt wurde, gibt es verschiedene Anhaltspunkte und Kriterien, nach welchen man unterschiedliche Leptospirenarten auseinanderhalten kann. Die einzigen Eigenschaften aber, welche für alle Species Verwendung finden können und auch konstant zu sein scheinen, sind deren *antigene* Eigenarten.

Wenn man somit einen Leptospirenstamm identifizieren, d. h. dessen Artzugehörigkeit bestimmen will, muß man sich über dessen Antigene Klarheit verschaffen.

Als *Antigene* (Vollantigene) bezeichnet man nach DOERR Substanzen, „welche, wenn sie dem tierischen Organismus in geeigneter Weise einverleibt werden, die Bildung von Antikörpern, d. h. von Stoffen hervorrufen, welche im Blutplasma auftreten und mit den Antigenen, denen sie ihre Entstehung verdanken, spezifisch reagieren“. Antigene sind also Antikörperbildner und wir können jene nur mit Hilfe ihres spezifischen Reaktionsvermögens gegenüber den entsprechenden Antikörpern nachweisen. Um Antigene bestimmen zu können, sind wir demzufolge darauf angewiesen, spezifische Antikörper zu produzieren.

Als *Antikörper* bezeichnen wir (um diesen Begriff der Vollständigkeit halber ebenfalls festzuhalten) nach TOPLEY und WILSON jede Substanz, welche im Blutserum oder den Körpersäften eines Tieres als Antwort auf den Reiz auftritt, den die parenterale Einführung eines Antigens in die Gewebe ausübt und die mit diesem Antigen spezifisch, in irgendeiner der Beobachtung zugänglichen Art reagiert.

In unseren Versuchen taten wir dies durch Herstellen artspezifischer Kaninchenimmunsera. Wir immunisierten die Kaninchen durch 6malige intravenöse Injektion von 1 cm³ ausgewachsener Leptospirenkultur; die Injektionen zeitlich auf 3 Wochen verteilt. Die Blutentnahme erfolgte 1 Woche nach der letzten Injektion. Die Resultate waren dieselben, wenn wir die Kaninchen mit lebenden oder mit formalinabgetöteten Kulturen immunisierten. Die so erhaltenen Immunseren wurden einzeln mit allen uns zur Verfügung stehenden Leptospirenarten im Agglutinationslysis-Versuch kreuzweise geprüft, wobei sich das in Tabelle 2 zusammengestellte Bild ergab. Bei diesen Antigenprüfungen, die sich aus äußeren Gründen über längere Zeit erstreckten, wurde am selben Tag stets ein Leptospirenstamm mit allen Seren geprüft (und nicht etwa ein Serum mit allen Stämmen), um eine einheitliche Beurteilung des betreffenden Stammes zu garantieren.

B. Zusammenfassung der Species in Gruppen.

Einzelne der in Tabelle 2 aufgeführten Leptospirenarten besitzen ganz selbständige Antigene und zeigen keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Stämmen. Es sind dies die Species *australis*, *mitis*, *autumnalis* und *bataviae*. Andere Arten lassen sich in verwandtschaftliche Gruppen zusammenfassen, indem sich deren Antigeneigenschaften wenigstens teilweise überdecken. So können wir unterscheiden:

- | | |
|--|--|
| 1. Grippytyphosagruppe mit den Arten | <i>grippytyphosa</i> ,
<i>bovis palaestinis</i> . |
| 2. Hebdomadisgruppe mit den Arten | <i>hebdomadis</i>
<i>sejrc</i>
<i>saxkoebing</i> . |
| 3. Pomonagruppe mit den Arten | <i>pomona</i> ,
<i>bovis New York</i> . |
| 4. Canicola-Icterohaemorrhagiae-Gruppe mit den Arten | <i>canicola</i> ,
<i>salinem</i> ,
<i>ballum</i> . |

Zu dieser Gruppe besitzt auch die *L. icterohaemorrhagiae* verwandtschaftliche Beziehungen.

Durch die Titerhöhe lassen sich die verschiedenen Species nicht unterscheiden, weil, wie später gezeigt werden wird, Stämme derselben Species, mit einem gleichen Serum geprüft, ganz verschieden hohe Agglutinationswerte aufweisen können. Ein und derselbe *Leptospirenstamm* sogar, zu verschiedenen Zeiten mit den gleichen Seren geprüft, wird von diesen in nicht einheitlicher Titerhöhe agglutiniert. Aus diesem Grunde haben wir auch bei unseren Antigen-ermittlungen am selben Tag stets einen Stamm mit allen Seren geprüft. Von Seren darf angenommen werden, daß sie sich über die Dauer von 3 Wochen konstant halten, während dies bei den Stämmen nicht unbedingt der Fall zu sein braucht.

Wir dürfen höchstens dann von unterschiedlichen Arten sprechen, wenn dieselben verschiedenartige Antigenbestandteile aufweisen, diese sich konstant nachweisen lassen und auch im Absättigungsversuch nach CASTELLANI retrograd bestätigt werden können.

Zu den einzelnen oben angeführten Gruppen ist folgendes zu sagen:

1. Grippytyphosagruppe.

Zwei verschiedene von uns geprüfte Stämme der *L. bovis palaestinis* ließen sich konstant von den Grippytyphosastämmen abtrennen, indem das Antigen der Bovisstämme einen Autumnalisanteil aufweist. Diese Feststellung stimmt zumindest prinzipiell mit dem von BERNKOPF und OLITZKI erhobenen Befund überein. Diese Autoren unterscheiden zwei Antigenanteile, von ihnen mit B und G bezeichnet. Die Antigenverschiedenheit zwischen *L. grippytyphosa* und *L. bovis* macht unter anderem das Auftreten stark verschiedener klinischer Krankheitsbilder erklärlich.

Ein Grippytyphosastamm, der seinerzeit von SCHMID in Bern aus dem Blute eines wegen akuten, bösartigen Katarrhalfiebers geschlachteten Rindes isoliert wurde (von uns „Rinderstamm Bern“ benannt), sich aber in der Folge nach von uns durchgeführten Infektionsversuchen an Kälbern als nicht rinderpathogen erwies und dessen Isolierung demzufolge als akzidenteller Befund gewertet wurde, weist das Autumnalisantigen der echten Bovisstämme nicht auf.

Wir haben versucht, die antigene Verschiedenheit zwischen Grippytyphosa- und Bovisart im Absättigungsversuch zu bestätigen. Dies gelang leider nur unvollständig. Im Bovisimmunserum läßt sich der gesamte Antikörperkomplex durch die *L. bovis* ohne weiteres absättigen, ebenfalls der Autumnalisanteil durch die *L. autumnalis*. Wenn man aber aus dem Gesamtkomplex mit Hilfe

Tabelle 2. Die antigenen Eigenschaften der von uns geprüften *Lentospiren*arten.

Immunserum ↓ hergestellt mit Leptospirostamm		Agglutinationsprobe mit Leptospirostamm														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Grippyphosa (Mijava)	Bovis palaestiniensis	Hebdomadis	Sejroe (Mörschwill)	Saxkoebing	Australis (-A)	Pomona (Mezzano)	Bovis New York B.	Mitis (JOHNSON)	Autumnalis	Salinum	Ballum	Canicola (Utrecht)	Icterohaemorrhagiae (Rattenzucht Leipzig)	Bataviae	
1	Grippyphosa (Mijava)	8000	8000					200								
2	Bovis palaestiniensis	8000	16000							2000						
3	Hebdomadis			16000	1000	16000										
4	Sejroe (Mörschwill)			200	8000	4000										
5	Saxkoebing			400	2000	64000										
6	Australis (-A)						16000									
7	Pomona (Mezzano)							8000								
8	Bovis New York B.	1000					8000	16000						8000		
9	Mitis (JOHNSON)								4000							
10	Autumnalis									16000						
11	Salinum										4000	1600	400	800		
12	Ballum										400	8000	1000			
13	Canicola (Utrecht)											8000	128000	2000		
14	Icterohaemorrhagiae (Rattenzucht Leipzig)							200								
15	Bataviae												4000		16000	

Tabelle 3. *Antigenanalyse der Grippytyphosagruppe.*
a) Agglutinine.

Serum hergestellt mit Leptospirenstamm	Agglutiniert Leptospirenstamm				
	1 L. Grippy- typhosa (verschiedene Stämme)	2 L. Bovis palaest. I	3 L. Bovis palaest. II	4 L. Rind Bern	5 L. Autum- nalis
1 Grippytyphosa Mijava . . .	8000—64000	8000	8000	4000	0
2 L. Bovis palaestinensis I. . .	8000—64000	16000	64000	8000	2000
3 L. Bovis palaestinensis II. .	8000—64000	16000	16000	8000	4000
4 L. Rind Bern	8000—64000	8000	16000	8000	0
5 L. Autumnalis.	0	0	0	0	16000

b) Absättigungsversuche.

Immunserum		Agglutinationstiter gegenüber		
		L. Grippy- typhosa Mijava	L. Bovis palaes- tinensis	L. Autum- nalis
Grippytyphosa (Mijava)	unabesättigt	3200	3200	0
	abesättigt mit L. grippytyphosa (Mijava)	400 (—3)	400 (—3)	0
	abesättigt mit L. Bovis palaestinensis	800 (—2)	400 (—3)	0
	abesättigt mit L. autumnalis	3200 (0)	3200 (0)	0
Bovis palaestinensis	unabesättigt	3200	3200	400
	abesättigt mit L. grippytyphosa (Mijava)	400 (—3)	400 (—3)	0
	abesättigt mit L. bovis palaestinensis	400 (—3)	400 (—3)	0
	abesättigt mit L. autumnalis	3200 (0)	3200 (0)	0
Autumnalis	unabesättigt	0	0	3200
	abesättigt mit L. grippytyphosa (Mijava)	0	0	3200 (0)
	abesättigt mit L. bovis palaestinensis	0	0	3200 (0)
	abesättigt mit L. autumnalis	0	0	0

Die Zahlen in () bezeichnen die Anzahl abgesättigter Titerstufen.

des Grippytyphosastammes den Grippytyphosaanteil absättigen will (damit der Autumnalisanteil allein übrig bleibe) verschwindet auch der Autumnalis-Antikörper aus dem Serum. Wir haben diese Absättigungsversuche oftmals unter zum Teil verschiedenen äußeren Versuchsbedingungen wiederholt und stets das gleiche Resultat erhalten. Umgekehrt wurde der Titer eines reinen Autumnalis-Immunserums nach Absättigung mit L. grippytyphosa nicht erniedrigt. Der Autumnalis-Antikörper im Bovis-Immunserum scheint irgendwie an den Grippytyphosa-Antikörper gebunden zu sein, um deshalb auch mit diesem wieder zu verschwinden. Die Tatsache, daß sich die beiden Antigenanteile der L. bovis nicht so leicht voneinander trennen lassen, wird auch unterstrichen durch Versuche von SCHINDLER. Die Autorin versuchte Leptospirenstämme mit Hilfe des PFEIFFER'schen Versuches auseinanderzuhalten, wobei es ihr nicht gelang, die L. bovis von der L. grippytyphosa abzutrennen.

2. Hebdomadisgruppe.

Von uns wurde diese Gruppe nicht eingehender geprüft, weil die Artverschiedenheit der in dieser Gruppe verzeichneten Stämme von anderen Autoren, namentlich von BORG PETERSEN, einwandfrei bewiesen worden ist.

3. Pomonagruppe.

Bis 1950 kannten wir nur Pomonastämme aus Australien, Italien und der Schweiz, die unter sich alle gleich waren. 1950 berichteten dann GOSCHENOUR, YAGER und WETMORE, daß die in den USA. von Rindern isolierten Stämme Pomonacharakter hätten, nachdem schon zuvor BAKER und LITTLE gemeldet hatten, daß ihre bovinen Stämme ein anderes antigenes Verhalten zeigen würden als die palästinensischen Rinderstämme.

Wir selbst gelangten im Sommer 1950 in den Besitz von 3 bovinen Stämmen aus USA. Wir haben diese Stämme auf ihren Antigencharakter geprüft. Dabei zeigte sich, daß 2 Stämme (New Jersey T 262 und New Jersey C 164) sich mit unseren Pomonastämmen als identisch erwiesen, während der dritte Stamm (New York B) in seinem Antigenkomplex einen starken Icterohaemorrhagiaeanteil und einen schwächeren Grippotyphosaanteil aufweist. Auf Grund dieser mit Hilfe verschiedener Immunsera einwandfrei festgestellten und im Ab-sättigungsversuch bestätigten antigenen Verschiedenheit (Tabelle 4a und 4b) sahen wir uns genötigt, den Stamm New York B von der Pomonaart abzutrennen und als selbständige Species aufzuführen.

Antigene der Pomonagruppe.

Tabelle 4a. *Agglutinine.*

Immuns Serum	Stamm						
	Pomona Mezzano	Bovis New Jersey C 164	Bovis New Jersey T 262	Bovis New York B	Grippotyphosa Mijava	Icterohaemorrhagiae Bern	Übrige Stämme
Pomona Mezzano	8000	16000	16000	32000	0	0	0
Bovis New Jersey C 164 .	8000	16000	8000	32000	0	0	0
Bovis New Jersey T 262 .	8000	16000	16000	32000	0	0	0
Bovis New York B	8000	8000	8000	16000	1000	8000	0

Tabelle 4b. *Absättigungsversuche.*

Immuns Serum		Agglutinationstiter gegenüber				
		Bovis New York B	Bovis New Jersey T 262	Pomona Mezzano	Grippotyphosa Mijava	Icterohaemorrhagiae Bern
Bovis New York B	unabgesättigt	16000	8000	8000	800	8000
	abgesättigt mit Bovis New York B	400	200	200	100	200
	abgesättigt mit Bovis New Jersey T 262	400	200	200	800	8000
	abgesättigt mit Pomona Mezzano	400	200	200	800	8000
	abgesättigt mit Grippotyphosa Mijava	16000	8000	8000	100	8000
	abgesättigt m. Icterohaemorrhagiae Bern	16000	8000	4000	800	200

Tabelle 4b. (Fortsetzung.)

Immunserum		Agglutinationstiter gegenüber		
		Bovis New York B	Bovis New Jersey T 262	Pomona Mezzano
Bovis	unabgesättigt	16000	8000	8000
New Jersey	abgesättigt mit Bovis New York B	400	400	200
T 262	abgesättigt mit Bovis New Jersey T 262	800	400	200
	abgesättigt mit Pomona Mezzano	800	400	200

Wie vorsichtig man vorgehen muß, wenn man einem *Leptospirenstamm* bestimmte Antigenfunktionen und damit bestimmten Artcharakter zuschreiben will, mag folgendes Beispiel beweisen. Die mit dem New York B-Stamm erzeugten Kaninchen-Immunsera wiesen regelmäßig einen starken Icterohaemorrhagiae-anteil auf. Bei der Immunisierung von Meerschweinchen war dieser Antikörperanteil im Meerschweinchenserum überhaupt nicht, oder nur ganz rudimentär nachzuweisen. Die Immunisierung von Meerschweinchen ergab immer wieder folgendes Bild:

Tabelle 4c. *Meerschweinchen-Immunisierung.*

Meerschweinchen- Immunserum	Agglutinititer gegenüber <i>Leptospirenstamm</i>				
	Bovis New York B	Bovis New Jersey T 262	Pomona	Grippotyphosa	Icterohaemorrhagiae
Bovis New York B	3200	3200	3200	3200	100
Bovis New Jersey T 262. . .	1600	1600	1600	3200	100

Aus der Tatsache, daß sich im Meerschweinchen-Immunserum der *L. bovis* New York B hochtitrige Grippotyphosa-Antikörper nachweisen lassen, darf nicht der Schluß gezogen werden, daß der Grippotyphosa-Antigenanteil bei dieser *Leptospire* besonders stark sei. Immunisiert man nämlich Meerschweinchen mit reinen Pomonastämmen, findet man anschließend in deren Serum ebenfalls Grippotyphosa-Antikörper, die ebenso hoch oder noch höher sind als die Pomonaantikörper. Auf dieses Phänomen unspezifischer Mit-Agglutinationen wird anschließend besonders hingewiesen.

Von OKSANEN mit *L. pomona* immunisierte Meerschweinchen zeigten folgende Agglutinititer:

Agglutinititer gegen	Meerschweinchen, immunisiert mit <i>L. Pomona</i>				
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5
<i>L. pomona</i>	500	1000	32000	8000	32000
<i>L. grippotyphosa</i>	4000	2000	8000	8000	8000

4. *Canicola-Icterohaemorrhagiae*-Gruppe.

In diese Gruppe gehören nebst der *L. canicola* vor allem die beiden schon früher, unter anderem ebenfalls von BORG PETERSEN erkannten selbständigen Arten *L. salinum* und *L. ballum*.

Die *L. canicola* gilt allgemein als *Leptospirenart* mit zum Teil nicht einheitlichen Antigenen und es wurden auch vielfach Übergangsformen von *L. canicola*

Tabelle 6. *Antigenvariationen verschiedener Canicola- und Icterohaemorrhagiaestämme.*

Serum	Stamm							
	Canicola Utrecht	Zürich 2	München 1	Wülfel A (Hamburg)	Icterohaemorrhagiae			
					Leipzig	Bern	Wismar	Ratte 10 Hamburg
Canicola Utrecht	128000	16000	128000	128000	2000	2000	200	200
Canicola Zürich 2	8000	8000	8000	1000	0	0	0	0
Canicola München 1	8000	8000	8000	1000	0	100	0	0
Canicola Wülfel A (Hamburg) .	8000	8000	8000	2000	0	100	0	0
Icterohaemorrhagiae Leipzig .	0	0	0	0	4000	8000	2000	2000
Icterohaemorrhagiae Bern . .	100	100	500	0	2000	4000	1000	1000
Icterohaemorrhagiae Wismar .	500	500	1000	0	2000	2000	4000	4000
Icterohaemorrhagiae Ratte 10 Hamburg	500	500	500	100	4000	8000	8000	8000

wissen aber im übrigen, daß sich sowohl bei der *L. icterohaemorrhagiae* als auch bei der *L. canicola* verschiedene Stämme nie ganz identisch verhalten, daß Übergangsformen im Sinne von Varianten bestehen und auch ein und derselbe Stamm im Laufe der Zeit geringfügige Wandlungen durchmachen kann. Schon 1927 haben SCHÜFFNER und MOCHTAR betont, daß „innerhalb der echten WEIL-Stämme gewisse Varianten“ vorkommen.

Aus Tabelle 6 geht hervor, daß sowohl Canicolastämme mit ausgeprägtem Icterohaemorrhagiaanteil vorkommen als auch Icterohaemorrhagiaestämme mit Canicolaanteil. Diese Feststellung läßt sich nicht nur an Hand von Kaninchen-Immunseren machen, sondern stimmt auch mit unseren Erfahrungen aus der Untersuchungspraxis überein, wo wir namentlich bei Canicolainfektionen sehr oft relativ hohe Icterohaemorrhagiae-Mit-Antikörper vorfinden.

Einer jüngsten persönlichen Mitteilung SCHLOSSBERGERS entnehmen wir, daß er letzthin mit einem aus dem Urin eines WEIL-Patienten isolierten Leptospirenstammes ein Kaninchen-Immunserum hergestellt hatte und daß dieses Serum den Eigenstamm bis zu einem Titer von 1:100000, den Stamm Icterohaemorrhagiae Verdun bis zu einem Titer von 1:50000 und den Canicolastamm Zürich 3 bis zu einem Titer von 1:12800 agglutinierte.

C. Das Phänomen der Mit-Agglutinine.

In der Folge seien einige kurze Ausführungen dem Problem und Phänomen der *Mit-Agglutinine* gewidmet.

Wenn Menschen oder Tiere an einer Leptospireninfektion erkranken bzw. mit einem Leptospirenstamm immunisiert werden, bilden sie in der Regel nicht nur spezifische Antikörper, d. h. solche, die dem eigenen Stammantigen entsprechen, sondern auch solche gegenüber anderen Leptospirenarten. Die Bildung

solcher Mit-Antikörper (Mit-Agglutinine) ließe sich relativ zwanglos durch die Hypothese vom Vorhandensein sog. Partialantigene erklären, wenn derselbe Leptospirenstamm bei allen Wirtsarten die gleichen Mit-Agglutinine hervorrufen würde. Dies ist aber bei weitem nicht immer der Fall und wir verzeichnen nicht nur bei Angehörigen verschiedener Wirtsarten wesentliche Unterschiede, sondern auch individuelle Schwankungen innerhalb ein und derselben Wirtsart. Das einzige uns bekannte Versuchstier, welches sozusagen keine unspezifischen Mit-Antikörper produziert, dessen Antikörperbildung also den erfaßbaren Antigen-eigenschaften entspricht und sich als relativ konstant erweist, ist das Kaninchen.

Wir müssen auf dem Gebiete der Leptospirosen unterscheiden:

Spezifische Mit-Antikörper, die gemäß entsprechender Mit-Antigene auftreten, konstant sind und für die Speciesbestimmung der betreffenden Leptospiren Bedeutung besitzen, von *unspezifischen Mit-Antikörpern*, die nicht konstant auftreten und von denen wir kein Antigenäquivalent zu erfassen vermögen.

1. Spezifische Mit-Antikörper.

Die Bildung spezifischer, artkonstanter Mit-Antikörper läßt sich mit der Hypothese vom Vorhandensein sog. Partialantigene (SCHLOSSBERGER) ohne weiteres erklären. Unter Partialantigenen verstehen wir dabei nicht Haptene, sondern Körper mit vollständigen Antigeneigenschaften. Der gesamte Antigenkomplex einer Leptospire setzt sich aus verschiedenen Teileigenschaften (z. B. $A + B + C$) zusammen, welche Teileigenschaften aber alle vollständigen Antigencharakter haben.

Abstrahierend von der These sog. Partialantigene weist DOERR, zum Teil LANDSTEINER zitierend, darauf hin, daß man nicht zur Annahme genötigt sei, daß in dem Material, mit welchem man die Immunisierung durchführt, mehrere Antigene als besondere selbständige Stoffe koexistieren, von denen jeder einen speziellen Antikörper erzeugt. Eine Vielheit serologischer Reaktionen bzw. eine Vielheit von spezifischen Antikörpern könne auch durch die Immunisierung mit einem chemisch einheitlichen Antigen zustande kommen, indem entweder Antikörper produziert würden, welche dem Antigen bald mehr bald minder vollkommen angepaßt seien, oder dadurch, daß das Antigen im Molekül mehrere Determinanten enthalte, welche unabhängig voneinander bei der Antikörperbildung zur Geltung kommen.

Wenn die These von den Partialantigenen nicht allen Kriterien gerecht zu werden vermag, bildet sie doch zum mindesten eine leicht faßbare Erklärung für das Auftreten verschiedener, spezifischer Mit-Antikörper bei Immunisierungsvorgängen mit ein und derselben Leptospirentart.

Als Beispiele solcher spezifischer Mit-Antikörper seien erwähnt bei der *L. bovis palaestinus* der Autumnalisanteil, bei der *L. bovis* New York der Icterohaemorrhagiae- und der Grippotyphosaanteil, ferner konstant auftretende Icterohaemorrhagiae-Antikörper bei verschiedenen Canicolastämmen und Canicola-Antikörper bei Icterohaemorrhagiaestämmen.

2. Unspezifische Mit-Antikörper.

Die Bildung der unspezifischen, nicht artkonstanten Mit-Antikörper läßt sich nicht auf einen ohne weiteres faßbaren Nenner bringen. Würden diese in bezug

auf das feststellbare Antigen unspezifischen Mit-Antikörpern wenigstens bei einer einheitlichen Wirtstierart konstant auftreten, ließe sich deren Bildung durch die Annahme erklären, daß die Leptospiren Eigenschaften besitzen, welche im Sinne „potentieller Antigenfunktionen“ LANDSTEINERS nur für einzelne Wirtsarten antigenen Charakter haben, für andere aber nicht.

Die Bildung unspezifischer Mit-Antikörper läßt sich noch am ehesten erklären durch die Annahme, die Antikörper gegenüber verschiedenen Leptospirenarten seien in chemischer Beziehung sehr nahe verwandt, so daß dann, z. B. begünstigt durch andere, von uns nicht ohne weiteres faßbare, vielleicht mit dem Krankheitsprozeß zusammenhängende Einflüsse (Verschiebung innerhalb der Serumglobulinfractionen) gekreuzte unspezifische Reaktionen auftreten können.

Während im allgemeinen die These gilt, daß mit zunehmender Dauer einer stattfindenden Immunisierung die unspezifischen Antikörper zunehmen, konnten wir auf dem Gebiete der Leptospiren das Gegenteil feststellen, wenigstens beim natürlichen Krankheitsgeschehen. So können wir zu Beginn des Auftretens von Antikörpern im Serum relativ viele unspezifische Mit-Agglutinine nachweisen und deren Titer kann sogar höher sein als derjenige der spezifischen Agglutinine, was diagnostisch von Bedeutung ist. Die Antikörper werden im Laufe der Krankheit bzw. der Rekonvaleszenz zunehmend spezifischer, d. h. die Mit-Agglutinine, soweit sie unspezifischer Natur sind, verschwinden. Auch in Immunsereen, die flüssig aufbewahrt werden, erweisen sich die Mit-Agglutinine als weniger dauerhaft, indem sie schon aus den Seren verschwinden, bevor sich ein Sinken des spezifischen Agglutinititers feststellen läßt.

OKSANEN hat 1946/47 in einer Dissertationsarbeit unter anderem Serien von Meerschweinchen mit bestimmten Leptospirenarten immunisiert und im Laufe der Immunisierung die Agglutinititer im Meerschweinchenserum bestimmt.

Von 6 Meerschweinchen, die mit *L. grippotyphosa* immunisiert worden waren, zeigten 2 Agglutinititer ausschließlich gegen *L. grippotyphosa*, 3 niedrige Mit-Agglutinine gegen *L. australis* und 1 Agglutinine gegenüber *L. pomona*, welche um eine Titerstufe höher waren als die Agglutinine gegenüber dem zur Immunisierung verwendeten Grippotyphosastamm.

Mit *L. australis* immunisierte Meerschweinchen zeigten wesentliche Mit-Agglutinine gegenüber der *L. icterohaemorrhagiae*, der *L. grippotyphosa* und in einem Fall auch gegenüber der *L. pomona*.

Tabelle 7. *Mit-Agglutinine nach Pomonainfektion* (OKSANEN).
Meerschweinchen mit *Leptospira-Pomona* infiziert am 25. 4. 1946.

Titerhöhe der Haupt- und Mit-Agglutination													
Meerschweinchen Nr. 237			Meerschweinchen Nr. 238			Meerschweinchen Nr. 277				Meerschweinchen Nr. 275		Meerschweinchen Nr. 197	
Datum	Lept. Po- mona	Lept. Grippo- typhosa	Lept. Po- mona	Lept. Grippo- typhosa	Lept. Au- stralis	Lept. Po- mona	Lept. Grippo- typhosa	Lept. Au- stralis	Lept. ictero- haemor- rhagiae	Lept. Po- mona	Lept. Grippo- typhosa	Lept. Po- mona	Lept. Grippo- typho
15. 5.	1:500	1:4000	1:1000	1:2000	1:2000	1:32000	1:8000		1:1000	1:8000	1:8000	1:32000	1:8000
3. 6.	1:400	1:6400	1:1600	1:1600	1:2000	1:6400	1:3200			1:1600	1:6400	1:6400	1:6400
14. 6.	1:100	1:1600	1:800	1:1600	1:400	1:3200	1:800			1:1600	1:1600		
16. 7.	0	1:800	1:200	1:100		1:200	1:100						
26. 6.	1:200	1:400	1:200	1:400	1:100	1:200	1:400	1:100					

Fünf mit *L. pomona* infizierte Meerschweinchen zeigten vor allem hohe, den Eigentiter zum Teil wesentlich übersteigende Mit-Agglutination gegenüber *L. grippotyphosa*, worüber verstehende, aus OKSANENS Arbeit stammende Tabelle 7 detaillierten Aufschuß gibt.

Mit *L. autumnalis* infizierte Meerschweinchen zeigten Mit-Agglutinine gegenüber *L. australis* und *grippotyphosa*.

Auch mit *L. canicola* und mit *L. icterohaemorrhagiae* immunisierte Meerschweinchen zeigten verschiedenartige Mit-Agglutinine.

Einzig die *L. bataviae* zeigte merkwürdigerweise bei allen 5 Versuchsmeerschweinchen vollständig spezifische, nur gegen die *L. bataviae* gerichtete Antikörper.

All diese als unspezifisch aufzufassenden Mit-Antikörper, deren Bildung sogar von Tier zu Tier wesentlich variiert, treten in entsprechenden Kaninchen-Immunseren nie auf. Die Meerschweinchenversuche OKSANENS mögen, abgesehen von der bekannten Tatsache, daß sich Meerschweinchen zu Immunisierungszwecken im allgemeinen wenig eignen, einmal mehr kundtun, wie vorsichtig man sein muß bei der Deutung aller serologischen Befunde, denen eine erkenntnistheoretische und damit verbunden oft auch rechtliche Struktur zugrunde liegt.

Die in Tabelle 8 zusammengestellte, ziemlich wahllos erfolgte Auslese von wiederholt untersuchten Patientenseren mag andeuten, wie vielgestaltig Art und Zahl unspezifischer Mit-Agglutinine sein kann und wie schwierig bzw. unmöglich es namentlich bei Frühuntersuchungen ist, die für die Krankheit verantwortliche Leptospirenart zu ermitteln. Namentlich bei Pomonaleptospirosen sehen wir immer hohe Frühtiter gegenüber *L. sejroe* und es steht für uns außer Zweifel, daß wir vor Kenntnis dieser Tatsache zu viele *Sejroeleptospirosen* diagnostiziert hatten. Auf diese Fehlerquelle wird bei Besprechung der einzelnen Leptospirosen und der spezifischen Diagnostik noch näher eingegangen.

Tabelle 8. *Beispiele von Mit-Agglutinationen beim Menschen.*

Prot.-Nr.	Krank- heitsstage	1. Befund	Krank- heitsstage	2. Befund	Krank- heitsstage	3. Befund
09/1947	11	Grippotyphosa 1:100 Sejroe 1:100 Pomona 1:100	16	Grippotyphosa 1:100 Sejroe 1:400 Pomona 1:400 Mitis 1:200	8 Mo.	Grippotyphosa 1:200 Pomona 1:3200
09/1948	17	Grippotyphosa 1:800 Sejroe 1:1000 Australis 1:200 Pomona 1:500 Autumnalis 1:400 Icterohaem. 1:200	35	Grippotyphosa 1:400 Sejroe 1:400 Australis 1:200 Pomona 1:3200 Autumnalis 1:400	2 Mo.	Sejroe 1:100 Australis 1:100 Pomona 1:1600
53/1949	6	Grippotyphosa 1:1000 Sejroe 1:2000 Pomona 1:1000 Autumnalis 1:100 Canicola 1:100 Icterohaem. 1:400 Mitis 1:500	15	Grippotyphosa 1:1000 Sejroe 1:2000 Pomona 1:2000 Autumnalis 1:200 Canicola 1:100 Icterohaem. 1:100	5½ Mo.	Pomona 1:1000

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

Prot. Nr.	Krank- heitsstage	1. Befund	Krank- heitsstage	2. Befund	Krank- heitsstage	3. Befund
995/1949	12	Grippytyphosa 1:12800 Sejroe 1:800 Australis 1:400 Icterohaem. 1:12800 Autumnalis 1:100	28	Grippytyphosa 1:2000 Sejroe 1:200 Australis 1:1000 Pomona 1:100 Autumnalis 1:200 Canicola 1:2000 Icterohaem. 1:2000	5½ Mo.	Grippytyphosa 1:100 Canicola 1:100 Icterohaem. 1:160
1120/1949	?	Grippytyphosa 1:200 Sejroe 1:200 Mitis 1:100 Icterohaem. 1:100	?	Sejroe 1:100 Pomona 1:200 Autumnalis 1:200 Icterohaem. 1:100	6 Wo.	Sejroe 1:100 Australis 1:100 Pomona 1:160 Autumnalis 1:100
1203/1949	10	Sejroe 1:400 Pomona 1:400 Autumnalis 1:200	32	Grippytyphosa 1:100 Sejroe 1:100 Pomona 1:4000		
1322/1949	11	Australis 1:40 Pomona 1:320 Canicola 1:160	16	Australis 1:200 Pomona 1:2000 Canicola 1:100 Icterohaem. 1:100		
1329/1949	12	Sejroe 1:160 Australis 1:320 Pomona 1:320 Icterohaem. 1:160	21	Grippytyphosa 1:500 Australis 1:500 Pomona 1:4000		
1376/1950	?	Sejroe 1:800 Mitis 1:800		Saxkoebing 1:200 Sejroe 1:1000 Mitis 1:8000		
1576/1950	20	Sejroe 1:3200 Mitis 1:200	31	Sejroe 1:4000 Mitis 1:64000	69	Sejroe 1:200 Mitis 1:160
596/1950	9	Grippytyphosa 1:200 Sejroe 1:400 Mitis 1:100 Canicola 1:100	13	Grippytyphosa 1:800 Sejroe 1:800 Pomona 1:1600 Autumnalis 1:200		
683/1950	5	Grippytyphosa 1:200 Pomona 1:200 Autumnalis 1:100 Icterohaem. 1:100	10	Grippytyphosa 1:100 Sejroe 1:500 Pomona 1:4000 Mitis 1:100 Icterohaem. 1:100		
977/1950	5	Blutkultur: Wachstum von <i>L. ictero</i> haem.	10	Grippytyphosa 1:100 Sejroe 1:800 Australis 1:100 Mitis 1:100 Canicola 1:100 Icterohaem. 1:200	17	Grippytyphosa 1:100 Sejroe 1:100 Australis 1:200 Icterohaem. 1:100
991/1950	10	Sejroe 1:1000 Pomona 1:100 Canicola 1:100	15	Sejroe 1:500 Pomona 1:1000		
1698/1950	15	Grippytyphosa 1:200 Pomona 1:100 Mitis 1:100 Autumnalis 1:1600 Icterohaem. 1:100	22	Pomona 1:800 Autumnalis 1:200 Icterohaem. 1:200		

D. Leptospirenantikörper und Hammelblutkörperchen-Agglutinine.

Anfangs 1950 wurden wir durch eine auswärtige Klinik verständigt, daß die mit dem Serum eines Leptospirosepatienten angestellte Hammelerythrocyten-Agglutinationsprobe hochtitrig positiv ausgefallen sei. Eine von uns vorgenommene Kontrolle bestätigte besagte Meldung. Wir haben in der Folge sämtliche Sera, welche Leptospirenagglutinine enthielten auch auf Hammelblutkörperchen-Agglutinine geprüft. Anfänglich hatten wir den Eindruck, als ob alle menschlichen Leptospiren-Immunseren eine Hammelblutkörperchen-Agglutination ergeben würden. Mit zunehmender Zahl untersuchter Seren fanden wir aber auch solche, bei welchen keine Agglutinine gegen Schaferythrocyten nachzuweisen waren.

In tierischen Seren mit positivem Leptospirenagglutinititer konnten wir nie Hammelerythrocyten-Agglutinine nachweisen. Dieselben kommen also nur beim Menschen vor.

Nachstehende Tabelle 9 enthält die Zusammenstellung der von uns vergleichsweise auf Heterohämagglutinine untersuchten positiven Leptospirensera.

Über die von uns angewandte Technik der Hammelblutkörperchen-Agglutinationsprüfung diene folgendes:

Wir verwendeten eine nur 0,5% Aufschwemmung von stets frischen und gut gewaschenen Hammelerythrocyten (gemäß eigenen Kontrolluntersuchungen erhält man mit einer 0,5% Blutkörperchenaufschwemmung einen um 2—3 Stufen höheren Agglutinititer als bei Verwendung einer 2%igen Aufschwemmung. Dies muß bei der Beurteilung der Titer in Rechnung gezogen werden). Das Serumerythrocytengemisch brachten wir vorerst für die Dauer von 2 Std in den Brutraum von 37° C und ließen es anschließend über Nacht im Kühlschrank bei +2° C stehen. Ablesen, ohne die Erythrocyten aufzuschütteln.

Die Frage, ob Antikörper gegen Leptospiren und gegen Hammelblutkörperchen identisch seien, wird schon durch die nachstehenden Resultate der Tabelle 9 ziemlich eindeutig mit nein beantwortet, indem die Antikörper gegen Hammelerythrocyten nicht in allen menschlichen Leptospirenseren nachweisbar sind und in tierischen Seren von Hund, Pferd und Schwein scheinbar überhaupt nicht vorkommen. Diese Nichtidentität versuchten wir durch kreuzweise Absättigungsversuche zu bestätigen. Dabei zeigte sich folgendes:

Fürs erste wählten wir zu diesen Absättigungsversuchen ein Serum, welches von einem Patienten stammte, der 2mal sicher eine Leptospirose durchgemacht hatte, im Jahre 1947 eine Pomona- und 1948 eine Mitisleptospirose. Die Leptospirenagglutinine dieses Patienten waren nicht mehr hochtitrig und demzufolge durch Leptospiren relativ leicht abzusättigen, dessen Hammelerythrocyten-Agglutinine wiesen aber einen relativ hohen Titer auf.

Tabelle 10 zeigt eindeutig, daß nach Absättigung der Leptospirenagglutinine durch die entsprechenden Leptospirenarten auch die Hammelerythrocyten-Agglutinine vollständig verschwinden, während umgekehrt die Leptospirenagglutinine sich weder durch Absättigung mit Hammelerythrocyten noch mit Meerschweinchen-nierenzellen beseitigen lassen. Letztere Tatsache versuchten wir an zwei weiteren Seren mit höherem Leptospirenagglutinititer zu bestätigen, was einwandfrei gelang.

Die Tatsache, daß sich die Leptospirenantikörper durch Hammelerythrocyten nicht absättigen lassen, beweist, daß die in den Leptospirensera vorkommenden

Tabelle 9. *Resultat vergleichender Untersuchungen auf Leptospirenantikörper und Hammelblutkörperchen-Agglutinine.*

a) Menschliche Seren.

Lfd. Nr.	Prot.-Nr. Lept.	Krankheits- dauer in Tagen	Agglutinationstiter gegen	
			Leptospiren	Hammel- erythrocyten
1	1022	10	Grippotyphosa 1:8000	8
2	1089	25	Grippotyphosa 1:32000	32
3	1092	14	Grippotyphosa 1:100	16
	1236	29	Grippotyphosa 1:400	32
4	1341	28	Grippotyphosa 1:200	32
5	1506	27	Grippotyphosa 1:1600	8
6	1584	16	Grippotyphosa 1:4000	32
7	1598	17	Grippotyphosa 1:8000	16
8	1691	?	Grippotyphosa 1:1600	16
9	1801	9	Grippotyphosa 1:6400	32
10	705	?	Sejroe 1:100	64
11	946	15	Sejroe 1:400	neg.
12	1047	30	Sejroe 1:800	neg.
(unspezifische Reaktion, keine Leptospirose)				
13	1318	?	Sejroe 1:12800	64
14	1376	8	Sejroe und Mitis je 1:800	32
15	973	7	Sejroe 1:1000	neg.
16	1178	?	Sejroe 1:100	256
17	1532	29	Sejroe 1:200	128
18	1175	?	Australis 1:8000	16
19	1176	?	Australis 1:8000	16
20	1177	?	Australis 1:4000	16
21	1553	14	Australis 1:200	32
22	613	12	Pomona 1:4000	32
23	1142	3 Monate	Pomona 1:500	16
24	708	12	Pomona 1:4000	256
25	743	18	Pomona 1:500	16
26	576	16	Pomona 1:4000	32
27	627	13	Pomona 1:1600	64
28	690	22	Pomona 1:1000	32
29	791	16	Pomona 1:200	neg.
30	792	60	Pomona 1:200	256
31	813	20	Pomona 1:10000	neg.
32	814	10	Pomona 1:2000	64
33	1046	14	Pomona 1:500	neg.
34	1164	16	Pomona 1:400	32
35	1236	29	Pomona 1:400	32
36	1310	9	Pomona 1:1600	16
37	1332	24	Pomona 1:800	32
38	1361	20	Pomona 1:1000	16
39	1368	12	Pomona 1:500	neg.
40	1412	10	Pomona 1:1000	128
41	1446	12	Pomona 1:400	32
42	1523	?	Pomona 1:2000	8
43	1533	?	Pomona 1:100	16
44	1594	23	Pomona 1:160	64
45	1678	14	Pomona 1:1600	16
46	1820	16	Pomona 1:800	128
47	1833	36	Pomona 1:400	32
48	1845	14	Pomona 1:4000	128
49	870	30	Mitis 1:1600	256
50	1081	60	Mitis 1:16000	64
51	1026	60	Mitis (Liquor) 1:64	Liquor neg.

¹ Gleicher Patient.

Tabelle 9. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Prot.-Nr. Lept.	Krankheits- dauer in Tagen	Agglutinationstiter gegen	
			Leptospiren	Hammel- erythrocyten
52	1502	etwa 2 Jahre	Mitis 1:200	128
53	1578		Mitis 1:200	128
54	557	18	Mitis 1:8000	512
55	588	45	Mitis 1:4000	64
56	702	10	Mitis 1:4000	128
57	727	14	Mitis und Sejroe je 1:1600 (unspezifische Reaktion, keine Leptospirose)	neg.
58	826	?	Mitis 1:1000	8
59	861	10	Mitis 1:800	16
60	972	12	Mitis 1:200	neg.
61	1017	18	Mitis 1:200	8
62	1025	60	Mitis 1:500	neg.
63	1119	12	Mitis 1:8000	64
64	1137	10	Mitis 1:3200	32
65	1145	90	Mitis 1:1000	16
66	1287	28	Mitis 1:2000	32
67	1340	11	Mitis 1:1600	32
68	1337	4 Monate	Mitis 1:1000	16
69	1589		Mitis 1:500	8
70	1804	10	Mitis 1:12800	32
71	1045	7	Mitis 1:800	8
72	1396	60	Mitis 1:200	16
73	1550	?	Mitis 1:2000	8
74	790	11	Canicola 1:200	neg.
75	1224	?	Canicola 1:800	16
76	1780	?	Canicola 1:2000	32
77	1118	10	Icterohaemorrhagiae 1:8000	64
78	1167	15	Icterohaemorrhagiae	Liquor neg.
			Liquor 1:16	
79	1296	30	Icterohaemorrhagiae 1:8000	256
80	1126	?	Icterohaemorrhagiae 1:100	64
81	1169	?	Icterohaemorrhagiae 1:100	64
82	1559	?	Negativ	128
83	483	30	Icterohaemorrhagiae 1:8 Mill.	256
84	977	10	Icterohaemorrhagiae 1:200	neg.
85	1014	80	Icterohaemorrhagiae 1:16000	128
86	1070	9	Icterohaemorrhagiae 1:128000	8
87	1136	12	Icterohaemorrhagiae 1:12800	32
88	1185	17	Icterohaemorrhagiae 1:500	32
			Mitis 1:2000	
89	1140	8	Icterohaemorrhagiae 1:4000	8
90	1143	13	Icterohaemorrhagiae 1:800	8
91	1174	?	Icterohaemorrhagiae 1:500	32
92	1303	18	Icterohaemorrhagiae 1:1600	128
93	1362	10	Icterohaemorrhagiae 1:4000	16
94	1560	3	Icterohaemorrhagiae 1:160	16
95	1586	35	Icterohaemorrhagiae 1:1600	64
96	1835	20	Icterohaemorrhagiae 1:32000	128
97	1170	14	Diverse 1:100	64
98	1267	?	Bataviae 1:51200 (Fall aus Bulgarien)	32
99	1309	—	negativ	32
100	1561	—	negativ	256

¹ Gleicher Patient.

Tabelle 9. (Fortsetzung.)

b) Tierische Seren.

Lfd. Nr.	Prot.-Nr. Lept.	Tiergattung	Agglutinationstiter gegen	
			Leptospiren	Hammel- erythrocyten
1	624	Pferd	Grippytyphosa 1:800	neg.
2	1187	"	Grippytyphosa 1:4000	neg.
3	1108	"	Grippytyphosa 1:32000	neg.
4	1472	"	Australis 1:1000	neg.
5	712	"	Australis 1:4000	neg.
6	726	"	Pomona 1:2000	neg.
7	1152	"	Pomona 1:4000	neg.
8	1319	"	Pomona 1:2000	neg.
9	1854	"	Pomona 1:1000	neg.
10	1855	"	Pomona 1:1000	neg.
11	610	"	Pomona 1:800	neg.
12	641	"	Pomona 1:2000	neg.
13	711	"	Pomona 1:4000	neg.
14	1159	"	Pomona 1:2000	neg.
15	1160	"	Pomona 1:500	neg.
16	1186	"	Canicola 1:1000	neg.
17	624	Schwein	Pomona 1:4000	neg.
18	1234	"	Pomona 1:1000	neg.
19	1235	"	Pomona 1:1000	neg.
20	1243	Hund	Canicola 1:2000	neg.

Hammelerythrocyten-Agglutinine mit den Leptospirenantikörpern nicht identisch sind.

Man könnte annehmen, daß die natürlicherweise im menschlichen Serum vorkommenden Agglutinine gegen Hammelblutkörperchen (möglicherweise „FORSSMANNSche Antikörper“) durch den Leptospirenantigenreiz eine Steigerung erfahren. Wenn diese bei menschlichen Leptospirosen erhöhten Hammelerythrocyten-Agglutinine von den Leptospirenantikörpern aber ganz unabhängig wären, dürfen sie durch Leptospiren nicht ohne weiteres abgesättigt werden, letzteres ist jedoch tatsächlich der Fall.

Wir haben versucht, in menschlichen Seren, die keine Leptospirenagglutinine, jedoch einen erhöhten Agglutinintiter gegenüber Hammelerythrocyten aufwiesen, diese Erythrocytenagglutinine durch Leptospiren abzusättigen, wie dies in Leptospiren-Immunseren möglich ist. Wir verwendeten Seren, die von Mononucleosepatienten stammten, deren Agglutinine sich also durch Meerschweinchen-nierenzellen nicht absättigen lassen, und solche Seren, bei denen der betreffende Titer aus anderen Gründen erhöht war, deren Agglutinine sich also durch Nierenzellen absättigen ließen. Aus beiden Gruppen von Seren ließen sich die Hammel-

Tabelle 10. Absättigung eines menschlichen Leptospiren-Immunserums mit Hammelerythrocyten, Nierenzellen und Leptospiren.

Menschliches Serum Nr. 1578/50	Agglutinintiter gegen		
	L. pomona	L. mitis	Hammel- erythrocyten
Unabgesättigt	100	200	128
Abgesättigt mit Hammelerythrocyten	100	100	0
Abgesättigt mit Meerschweinchen-nierenzellen	100	100	0
Abgesättigt mit L. pomona und L. mitis	0	0	0

Tabelle 11. *Absättigung von Leptospiren-Immunseren mit Hammelerythrocyten und Nierenzellen.*
a) Menschliches Serum.

Menschliches Serum Nr. 1598/50	Agglutinintiter gegen	
	L. grippotyphosa	Hammel- erythrocyten
Unabgesättigt	8000	16
Abgesättigt mit Hammelerythrocyten	8000	0
Abgesättigt mit Meerschweinchennierenzellen	8000	0

b) Pferdeserum.

Pferdeserum Nr. 1617/50	Agglutinintiter gegen	
	L. grippotyphosa	Hammel- erythrocyten
Unabgesättigt	800	0
Abgesättigt mit Hammelerythrocyten	800	0
Abgesättigt mit Meerschweinchennierenzellen	800	0

erythrocyten-Agglutinine mit Hilfe von Leptospiren nicht absättigen. Nachfolgende 2 Beispiele mögen dies belegen:

Tabelle 12. *Absättigung von Seren mit positiver „HANGANUTZIU-DEICHER“-Reaktion, jedoch ohne Leptospirenantikörper, durch Meerschweinchennierenzellen und Leptospiren.*

	Hammelerythrocyten-Agglutinine	
Serum Nr. 634 (kindliche familiäre Lebercirrhose)	unabgesättigt	512
	abgesättigt mit Meerschweinchennierenzellen	16
	abgesättigt mit L. pomona	512
Serum Nr. 639 (Mononucleose)	unabgesättigt	2048
	abgesättigt mit Meerschweinchennierenzellen	256
	abgesättigt mit L. icterohaemorrhagiae	256

Nachdem bei allen menschlichen Leptospirosearten eine Erhöhung der Agglutinine gegen Hammelerythrocyten möglich ist, dieselben also nicht mit bestimmten artspezifischen Leptospirenantikörpern in Zusammenhang stehen, stellte sich die Frage, ob die Hammelerythrocyten-Agglutinine eventuell auch durch artfremde Leptospiren, d. h. durch eine Leptospirenart, welche nicht krankheitsverursachend war, abgesättigt werden könnten. Dies ist nicht oder nur beschränkt der Fall. Sättigt man das Serum mit einer gleichen Menge artfremder Leptospiren ab, wie sie bei Artgleichheit genügt, um die Erythrocyten-Agglutinine vollständig zu entfernen, sinkt wohl der Titer um 1—2 Stufen, verschwindet aber nie ganz. Folgendes Beispiel diene als Beleg:

Tabelle 13. *Absättigung eines Leptospiren-Immunserums mit Meerschweinchennierenzellen, arteigenen und artfremden Leptospiren.*

		Agglutinine gegen	
		L. pomona	Hammel- erythrocyten
Menschliches Serum Nr. 646 (Pomonaleptospirose)	unabgesättigt	800	128
	abgesättigt mit Meerschweinchennierenzellen	800	0
	abgesättigt mit L. pomona	0	0
	abgesättigt mit L. icterohaemorrhagiae	800	32

Selbstverständlich machen unsere Versuche, die sich mit dem Problem des Auftretens heterophiler Antikörper beschäftigen, keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sie vermögen höchstens einzelne relativ primitive Fragestellungen aufzurollen.

Will man für die Feststellung, daß im Zusammenhang mit dem Auftreten von Leptospirenantikörpern in menschlichem Serum sehr oft auch Hämagglutinine gegen Schaferythrocyten auftreten, eine Erklärung finden, muß man sich vergegenwärtigen (was kürzlich von TOMCSIK und SCHWARZWEISS erneut betont worden ist), daß verschiedenartige Antikörper den gleichen Effekt haben, d. h. das Phänomen der Hämagglutination auslösen können. Möglicherweise geht der normalerweise in menschlichen Seren vorkommende Antikörper gegen Schaferythrocyten mit einem Bestandteil (Teilprodukt) der Leptospirenantikörper, welcher bei den verschiedenen Artantikörpern nahe verwandt ist und vielleicht Haptencharakter hat, eine Bindung ein. Dieses gekoppelte Produkt vermag dann die Schaferythrocyten in stärkerem Maße zu agglutinieren, was sich in einer Titersteigerung dokumentiert. Wird die von den Leptospirenantikörpern stammende Komponente durch Absorption wieder abgespalten, was nur mit artgleichen Leptospiren möglich ist, sinkt dementsprechend der Agglutinititer gegen die Hammelblutkörperchen.

V. Leptospirenerkrankungen bei Mensch und Tier.

A. Zustandekommen der Infektionen.

Um an einer Leptospirose erkranken zu können, muß man, wie dies grundsätzlich bei allen Infektionskrankheiten der Fall ist, mit einem Milieu in Berührung kommen, welches pathogene Leptospiren enthält. RIMPAU hat die Leptospirose eine Aufsuchkrankheit genannt. Diese Benennung ist an sich anschaulich, trifft aber letzten Endes für jede Infektionskrankheit zu.

1. Eintrittspforte: Haut und Schleimhäute.

Die Leptospiren scheinen vor allem durch kleine Hautdefekte in den Wirtsorganismus einzudringen; auf alle Fälle findet man bei genauer Beachtung an fast allen Patienten, namentlich denjenigen mit benignen Leptospirosen, Verletzungen der äußeren Haut. Intakte Haut vermögen die Leptospiren nicht zu durchdringen. Wir selbst haben eine frisch von einem Patienten isolierte Pomona-kultur während 5 min in die intakte Haut des Vorderarmes eingerieben, ohne daß eine Erkrankung oder ein Auftreten von Pomona-Antikörpern feststellbar war.

Infektionen durch intakte Schleimhäute hindurch sind möglich, scheinen aber zu den Ausnahmen zu gehören. So haben beispielsweise WALCH-SORGDREGER berechnet, daß auf 23000 Personen, die in mit Leptospiren infizierten Gewässern baden, nur 1 Person erkrankt.

Immerhin sind Fälle beschrieben, wonach Experimentatoren eine WEILSche Krankheit aquirierten, weil ihnen leptospirenhaltiges Material in die Augen gespritzt war.

Experimentell ist es UHLENHUTH und FROMME gelungen, Meerschweinchen durch Eintropfen leptospirenhaltigen Materials (*L. icterohaemorrhagiae*) in den

Conjunctivalsack zu infizieren. Infektionsmöglichkeiten durch Schleimhäute hindurch bewies auch BRUNNER, welcher Goldhamstern aus Kulturflüssigkeit stammende virulente Canicolaleptospiren in Augen und Nase träufelte und auf diese Weise regelmäßig eine Septicämie erzeugte.

Wir selbst konnten obige Feststellungen nur dann bestätigen, wenn hochvirulente Leptospiren verwendet wurden. Versuchte man Meerschweinchen mit einer nicht mehr vollvirulenten WEIL-Kultur transconjunctival zu infizieren, erkrankten die Tiere nicht und es ließen sich im Wirtsorganismus anschließend weder Leptospiren noch deren Antikörper nachweisen. Grippotyphosaleptospiren haben in vitro eine frisch isolierte Kaninchenconjunctiva während 48 Std nicht durchwandert.

Aus den Tierversuchen zu schließen, scheint das Penetrationsvermögen der Leptospiren mit deren Virulenz in Einklang zu stehen, indem zweifellos nicht mehr virulente Stämme ein bedeutend geringeres Eindringungsvermögen besitzen als virulente.

2. Perorale Infektion.

Perorale Infektionsmöglichkeiten spielen beim Menschen praktisch keine Rolle, weil die Leptospiren durch den sauren Magensaft sofort zerstört werden. So sind denn auch nur ganz vereinzelte Trinkwasserepidemien beschrieben, wovon die von JORGE mitgeteilte WEIL-Epidemie in Lissabon (126 Erkrankungen bei infiziertem Brunnenwasser) die bekannteste ist. Das als besonders schmackhaft geltende Wasser des betreffenden Brunnens wurde infiziert, weil eine Verbindung mit von Ratten bevölkerten Schwemmkanälen bestand. Es ist wahrscheinlich, daß die Leptospiren gar nicht im Magen, sondern im Nasenrachenraum ihre Eintrittspforte fanden, indem es dort üblich sein soll, das Wasser nicht aus Gefäßen zu trinken, sondern aus der Hohlhand zu schlürfen. UHLENHUTH und FROMME vermochten Meerschweinchen höchstens dann peroral zu infizieren, wenn an den Mundschleimhäuten Verletzungen gesetzt wurden.

3. Transplacentare Infektion.

Transplacentare Infektionen sind möglich und experimentell zu beweisen, spielen aber in der Praxis ebenfalls eine vollständig untergeordnete Rolle. Nach Mitteilung von UHLENHUTH und FROMME gelang 1927 TAGAKI im Meerschweinchenterversuch die transplacentare Infektion von Foeten und ebenso rückläufig die Infektion des Muttertiers vom Foeten aus. Auch BABUDIERI und BIOCICA berichten, daß ein Durchdringen der Placenta durch Leptospiren möglich ist, aber lange nicht bei jeder Gelegenheit stattfindet.

Wir selbst haben kürzlich zusammen mit BRUNNER drei hochträchtige Meerschweinchen intraperitoneal mit einem Stamm virulenter *L. icterohaemorrhagiae* infiziert und machten anschließend folgende Beobachtungen:

1. Meerschweinchen: wirft am Tag nach der Infektion 2 Junge. Diese bleiben gesund und es lassen sich in der Folge in ihrem Organismus weder Leptospiren noch Leptospirenantikörper nachweisen. Das Muttertier überlebt ebenfalls und wird am 15. Tag post infectionem getötet. In Leber und Nieren lassen sich massenhaft Leptospiren nachweisen. Agglutininintiter im Serum noch negativ.

2. Meerschweinchen: stirbt 6 Tage nach der Infektion und zeigt pathologisch-anatomisch das typische Bild der WEIL-Infektion. Die mütterliche Placenta weist kreisrunde, scharf begrenzte gelbe Nekroscherde von etwa 1 cm Durchmesser auf. An der foetalen Placenta lassen sich keine Veränderungen nachweisen.

Vier im Mutterleib sich befindliche ziemlich ausgetragene Foeten werden unter Einhaltung steriler Kautelen seziiert: in deren Organen lassen sich weder direkt noch kulturell Leptospiren nachweisen.

3. Meerschweinchen: wirft 14 Tage nach der Infektion 3 Junge. Das Muttertier sowie die 3 Jungen werden 6 Tage nach der Geburt herzpunktiert. Agglutinintiter: Muttertier +1:200.

1. Junges: +1:2000, 2. und 3. Junges: negativ. Das 1. Junge ist einige Tage später spurlos verschwunden; vermutlich ist es gestorben und von der Mutter aufgefressen worden.

Die beiden anderen Jungen starben am 22. Tag nach der Geburt. Agglutinintiter im Serum 1:400 und 1:800. Leptospiren sind nicht nachweisbar, die Organe sind aber mischinfiziert. Das Muttertier überlebt.

Transplacentare Infektionen sind also auch nach unseren Feststellungen zweifelsohne möglich, sonst hätte nicht ein 6 Tage altes Jungtier einen 10mal höheren Agglutinintiter aufweisen können als das Muttertier. Auch die beiden anderen Jungtiere haben ihre Antikörper selbst gebildet und nicht transplacental von der Mutter erhalten. Bei diesen beiden Jungen besteht aber die Möglichkeit, daß sie sich nach der Geburt beim Zusammenleben mit der Mutter infiziert haben.

Ein Durchtreten von Leptospirenantikörpern durch die Placenta konnten wir im Tierversuch nie beobachten. Wir haben zahlreiche Meerschweinchen vor der Konzeption und während der Gravidität mit abgetöteten oder avirulenten Leptospiren hochtitrig immunisiert, konnten aber in den Jungen nie Antikörper nachweisen. Auch bei Kaninchen fanden wir die Placenta für Leptospiren oder deren Antikörpern nie durchgängig. Wir haben frisch gedeckte Kaninchen mit einem lebenden Grippotyphosastamm bis zur Geburt fortlaufend immunisiert: bei den Jungtieren waren in der Folge nie Leptospirenagglutinine nachweisbar. Die gleichen Mutterkaninchen haben wir wieder gedeckt und bis zur Geburt mit abgetöteten Leptospiren weiterimmunisiert: trotz hoher artspezifischer Antikörper bei den Muttertieren fehlten solche bei den Jungen vollständig, obwohl man schon in den ersten Tagen post partum geprüft hat.

WINSSER berichtet in einer Arbeit über Hundeleptospirosen folgendes: Eine 3½-jährige trächtige Hündin wird wegen Inappetenz untersucht und es wird eine Leptospirose festgestellt. Ein Monat später wirft sie 6 Junge. Am Tage bzw. 4 Tage nach der Geburt betragen die Agglutinintiter:

Tabelle 14.

	Canicola	Ictero-haemorrhagiae
Mutter	30000	1000
1. Junges	3000	100
2. und 3. Junges	1000	0
2. und 3. Junges 9 Monate nach der Geburt	0	

Verfasser ist der Auffassung, daß bei den Welpen eine passive Immunisierung stattgefunden hat. Unseres Erachtens ist dies keineswegs belegt. Die Foeten können in utero infiziert worden sein und selbst, also aktiv ihre Antikörper gebildet haben. Daß 9 Monate nach der Geburt bei den Jungen keine Agglutinine

mehr nachweisbar waren, spricht nicht unbedingt gegen letztere Annahme, wies doch das Muttertier 14 Monate nach der Geburt ebenfalls einen Canicolatiter von nur noch 1:300 auf.

Sind nun pathogene Leptospiren auf irgendeine Weise in den Wirtsorganismus eingedrungen, erzeugen sie daselbst nach einer Inkubation von 8—14 Tagen (bei artefizieller Einverleibung auch früher) eine Septicämie. BRUNNER, der Goldhamster tranconjunctival mit Canicolaleptospiren infizierte, wies dieselben am 3. und 4. Tage nach der Infektion in Blut und Organen nach. Das septicämische Stadium dauert beim Menschen in der Regel 5—8 Tage. Während dieser Zeit lassen sich demzufolge die Leptospiren in Blut und Organen nachweisen.

Der Wirtsorganismus begegnet dem Infekt mit artspezifischer Antikörperbildung. Die Antikörper lassen sich durchschnittlich vom 8.—12. Krankheitstage an, ausnahmsweise auch schon früher oder erst später, im Serum und anderen Körpersäften nachweisen.

Auf dem Leptospirennachweis während des septicämischen Stadiums und der nachherigen Feststellungsmöglichkeit von Antikörpern baut sich die spezifische Diagnostik der Leptospirosen auf.

B. Die durch die einzelnen Leptospirenarten bedingten Erkrankungen beim Menschen.

Uns fehlt persönliche Erfahrung am Krankenbett. Die klinischen Merkmale der Leptospirosen, soweit sie prägnant sind, seien deshalb in Kürze hier zusammengefaßt. Der Wunsch, jene überhaupt zu erwähnen, entspringt einem Bestreben und Bedürfnis nach Vollständigkeit. Demselben soll nachfolgend Rechnung getragen werden.

Mit Hilfe klinischer Methoden allein ist es nicht möglich, alle durch die verschiedenen Leptospirenarten verursachten Krankheitsbilder einwandfrei auseinanderzuhalten. Diese Differenzierungsaufgabe zu bewerkstelligen, bleibt in erster Linie der serologischen Diagnostik vorbehalten. Diese wird im zweiten, untersuchungstechnischen Teil behandelt.

Detaillierte und präzise Angaben aller mit der Klinik irgendwie in Zusammenhang stehender Probleme findet der Interessent vor allem in der neuesten universellen Arbeit GSELLs: „Leptospirosen“.

GSELL hat die menschlichen Leptospirosen in drei große Gruppen eingeteilt. Bei dieser Einteilung sollen, wie dies dem praktischen Bedürfnis entspricht, in erster Linie klinische Daten wegweisend sein. Daneben sollte in dieser Großgruppierung der Zusammenhang mit den häufigsten Trägern der betreffenden Leptospirenarten und wenn möglich auch das geographische Vorkommen mitberücksichtigt bleiben; ein Bestreben, das man nur befürworten kann, solange es beim hier Wesentlichen, dem Klinischen, zu keinen Kompromissen und damit Unklarheiten zwingt. Die drei genannten Hauptgruppen formieren sich nach GSELL wie folgt:

1. Gruppe: meist ikterisch verlaufende Leptospirosen mit in der Regel schwerem Krankheitsbild.

- a) Übertragung durch Ratten (*Morbus Weil*).
- b) Übertragung durch Rinder (*Leptospirosis bovis palaestinis*).

2. Gruppe: bald ikterisch, bald anikterisch verlaufende Leptospirosen mit in der Regel mittelschwerem Krankheitsbild.

Übertragung durch Ratten und Mäuse (*Leptospirosis autumnalis*, *Leptospirosis bataviae*, *Leptospirosen* der *Pyrogenesgruppe*, *Leptospirosis ballum* und *australis*).

3. Gruppe: meist anikterisch verlaufende Leptospirosen mit gutartigem Krankheitsverlauf, oft als „benigne Leptospirosen“ zusammengefaßt.

a) Übertragung durch Mäuse (*Leptospirosis grippotyphosa*, *hebdomadis sejrce*, *saxkoebing*; meistens Feld-, Ernte- oder Schlammfieber genannt).

b) Übertragung durch Schweine (*Leptospirosis pomona* und *mitis*; Schweinehüterkrankheit).

c) Übertragung durch Hunde (*Leptospirosis canicola*).

1. Gruppe. Wie alle Leptospirosen beginnt die WEILsche Krankheit akut mit früh auftretenden allgemeintoxischen Symptomen. In den meisten Fällen tritt zwischen 3. und 5. Krankheitstag Ikterus auf, der mehrere Wochen anhalten kann. Ikterus, Nephritis, eventuell Meningismus, toxisch-entzündliche Erscheinungen an anderen Organen, mehr oder minder starke Zeichen hämorrhagischer Diathese stehen im Vordergrund. Letalität schwankend, 7—10%, mehrheitlich jedoch 7—25%, in einzelnen Gebieten bis 70%.

Die *Leptospirosis bovis palaestinis* weist ebenfalls in erster Linie Ikterus mit Nierenbeteiligung auf und das Krankheitsbild entspricht im übrigen einem mittelschweren *Morbus Weil*.

2. Gruppe. Es sind dies Weil-ähnliche Erkrankungen, oft jedoch einhergehend ohne Ikterus und in der Regel gutartiger verlaufend als die WEILsche Krankheit. Im übrigen findet man bei diesen „mittelschweren“ Leptospirosen dieselben allgemeingültigen Charakteristica, wie sie nachstehend bei den „benignen Leptospirosen“ aufgezählt sind.

Wir selbst hätten die menschliche *Canicolaleptospirose* lieber in der Gruppe 2 untergebracht gesehen. GSELL schreibt selbst, daß sie einen protrahierteren Verlauf zeigt als die übrigen wirklich gutartigen Leptospirosen, und MEYER und BRUNNER geben an, daß in 4% aller Fälle ein schwerer und in 12% ein mäßiger Ikterus festzustellen sei. Daneben sind einige Todesfälle beschrieben.

Im Gegensatz dazu hätten wir die *Leptospirosis australis* zu den benignen Leptospirosen gereiht. Aus den bei uns eingehenden Meldungen geht immer wieder hervor, daß sie als gutartiges Feldfieber imponiert.

Jede künstliche Einteilung wird irgendwie hinken, und so müssen wir Biologen trotz allem Trachten nach Ordnung uns immer wieder hüten, allzu stark schematisieren zu wollen.

3. Gruppe. Abgesehen von der *Leptospirosis canicola*, bei der hin und wieder schwerere klinische Krankheitsbilder gesehen werden, verlaufen die in dieser Gruppe zusammengefaßten Leptospirosen restlos gutartig. Es sind aus der Literatur nur vereinzelte Todesfälle bekannt, bei vorbestehenden organischen Leiden. GSELL erwähnt 10 Punkte, welche klinisch eine benigne Leptospirose in Erwägung ziehen lassen:

- a) akuter Beginn;
- b) hohes Fieber, meist mit diphasischem Verlauf;
- c) Algien;
- d) Conjunctivitis bzw. Episkleritis;
- e) Meningismus;

- f) renale Reizerscheinungen;
- g) Exantheme;
- h) Hypotonie;
- i) relative Bradykardie;
- k) negativer Lokalfund, d. h. kein Lokalfund, welcher das hohe Fieber erklären würde.

Bei Beachtung der genannten Kardinalsymptome kann schon klinisch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen einer Leptospirose getippt werden. Diese sicherzustellen bzw. die Urheberleptospire (Art) ausfindig zu machen, bleibt dem serologischen Fachlaboratorium vorbehalten.

Es darf hier erwähnt werden, daß wir viele Blutproben zugeschickt bekommen, die infolge diagnostischer Verlegenheit oder auch zwecks diagnostischer Vollständigkeit noch auf Leptospiren untersucht werden sollen. Die Resultate solcher Untersuchungen sind immer negativ; ein Zeichen dafür, daß man mit einer genauen klinischen Beobachtung doch schon recht weit kommen kann.

Wir hatten einzig Gelegenheit, post festum einige WEIL-Fälle zu diagnostizieren, die scheinbar nicht sehr typisch verlaufen waren und — weil in eine entsprechende Epidemiezeit fallend — als Hepatitis epidemica angesprochen worden waren.

C. Leptospirenkrankungen bei Tieren.

Die erwähnten pathogenen Leptospirenarten verursachen nicht nur beim Menschen, sondern auch bei gewissen Haus- und Nutztieren charakteristische Krankheitserscheinungen.

1. Hundeleptospirose (Stuttgarter Hundeseuche).

1932 stellten KLARENBEEK und SCHÜFFNER fest, daß die eigentlich schon seit 1852, genauer aber seit 1898 als Krankheitseinheit bekannte Stuttgarter Hundeseuche durch eine Infektion mit der *L. canicola* hervorgerufen wird. Bei der Stuttgarter Hundeseuche stehen klinisch im Vordergrund: Mattigkeit, Appetitlosigkeit und Erbrechen, Temperaturerhöhung bis 40° C, Hämorrhagien der Mund- und Zahnschleimhaut, nephritische bzw. urämische Symptome, gelegentlich Ikterus. Starke Gewichtsabnahme der Tiere, namentlich infolge großer Flüssigkeitsverluste. Die Mortalität ist unterschiedlich, beträgt aber durchschnittlich 50%.

Der Hund erkrankt auch nach Infektionen mit *L. icterohaemorrhagiae*, was hauptsächlich dann der Fall sein wird, wenn Hunde mit infizierten Ratten in Kontakt geraten.

Anläßlich einer Hundeepidemie in Zürich, die von JENNY und KANTER eingehend beschrieben wurde, hatten wir im Winter 1944/45 Gelegenheit, 137 solcher Canicola-Hundeleptospirosen serologisch sicherzustellen. Der Infektionsvorgang bei der Hundeseuche ist nicht einwandfrei sichergestellt. Die Annahme einer direkten Übertragung von Hund zu Hund, infolge Beschnüffeln, hat am meisten für sich und ist am naheliegendsten. In dieser Richtung weist auch die Tatsache, daß anläßlich der obengenannten Epidemie das Verhältnis von erkrankten Rüden zu Hündinnen wie 6:1 war, bei einem effektiven Bestandesverhältnis von 2:1. Gegen die Annahme einer direkten Übertragung von Hund zu Hund spräche die Feststellung, daß es den Autoren trotz künstlich geschaffenem engstem

Kontakt zwischen gesunden und kranken Hunden nicht gelang, gesunde Hunde krank zu machen. Belegt durch Nachforschungen während der Züricher Epidemie können andersartige Leptospirenträger (Mäuse, Ratten usw.) sowie auch Ektoparasiten als Überträger der Canicola leptospirose im allgemeinen ausgeschlossen werden.

Die Tatsache, daß nach Umgang mit kranken Hunden immer wieder menschliche Erkrankungen festgestellt werden und die Inkubationszeit beim Menschen mit dem Zeitintervall seit dem Hundekontakt übereinstimmt, spricht doch dafür, daß die Übertragung vom Hund aus direkt erfolgt, zumal sichergestellt ist, daß die Hunde wenigstens temporär Leptospiren im Urin ausscheiden und daß auch infizierte Hunde Leptospirenträger werden können, ohne selbst zu erkranken.

Bei den überlebenden Hunden hinterläßt die Canicolainfektion oft eine chronische Nephritis, die sich im Laufe der Zeit zur Schrumpfniere entwickeln kann. BORG PETERSEN fand bei 45 Hunden mit histologisch nachgewiesener chronischer Nephritis in 36 Fällen = 80% Canicolaagglutininintiter.

Die Leptospirose der Silberfuchse, verursacht durch die L. DW-W, ist unseres Erachtens ein der Hundeleptospirose nahestehender Krankheitsprozeß, obwohl der Stamm DW-W als selbständige Art beschrieben worden ist. Wir selbst hatten keine Gelegenheit, den DW-W-Stamm zu begutachten. Es darf aber in diesem Zusammenhang an die Heterogenität der Canicolastämmen erinnert werden.

2. Leptospirose der Rinder.

1935 wurde in Südrußland eine Rinderkrankheit mit Ikterus und Hämaturie als Hauptsymptome beschrieben. Letalität 10—60%. MINCHIM wies zunächst histologisch Spirochäten nach und 1939 bzw. 1941 isolierten TERSKICH und später SEMSKOW solche mit Hilfe kultureller Methoden. Die Leptospirose wurde in der Folge „*L. icterohaemoglobinuriae bovis*“ bezeichnet.

1946 beschrieben BERNKOPF sowie BERNKOPF und OLITZKI, ferner BERNKOPF, OLITZKI und STUCZYNSKI eine in Palästina beim Rinde sowie bei frei lebenden Büffeln vorkommende Leptospirose, welche hervorgerufen wird durch die *L. bovis*, von uns als *L. bovis palaestinisensis* bezeichnet. Diese *L. bovis palaestinisensis* ist wahrscheinlich identisch oder zumindest nahe verwandt mit der vorgängig beschriebenen *L. icterohaemoglobinuriae bovis*. Auch bei der Rinderleptospirose in Palästina sind namentlich Leber und Nieren in Mitleidenschaft gezogen, so daß nebst nephritischen Symptomen in der Regel Ikterus auftritt. Die Krankheit endet beim Rinde vielfach tödlich und ist auf den Menschen übertragbar, wo ein der Rinderleptospirose analoges, Weil-ähnliches Krankheitsbild entsteht.

1948 beschrieben SUTHERLAND und MORILL einerseits und BAKER und LITTLE andererseits eine in verschiedenen Staaten der USA. vorkommende Rinderleptospirose. In der Folge wurde eine schwere Krankheitsform, die oft äußerst akut verläuft, in wenigen Tagen zum Tode führt, mit Ikterus und Hämoglobinurie einhergeht und bei Überleben eine lange Rekonvaleszenz, chronische Nephritis und Anämie hinterläßt, unterschieden von einer milden Form, bei der nur wenige Tage Fieber registriert wird und nebst ebenfalls vorkommender Hämoglobinurie eine hämorrhagische Mastitis mit starkem Rückgang der Milchsekretion im Vordergrund steht.

Wie im Kapitel IV über die antigenen Eigenschaften der Leptospiren berichtet wurde, stellten LITTLE und BAKER fest, daß ihre von Rindern isolierten Leptospirenstämme mit den palästinensischen in antigener Beziehung nicht identisch seien und GOSCHENOUR, YAGER und WETMORE bezeichneten die Stämme New Jersey C 164 und New York A als Pomonaleptospiren.

Wir selbst untersuchten die 2 New Jersey-Stämme C. 164 und T 262, die wir antigenmäßig der *L. pomona* ebenfalls gleichstellen. Beim Stamm New York B (den Stamm New York A hatten wir nicht zur Verfügung) fanden wir zusätzliche Icterohaemorrhagiae- und Grippotyphosaantigene und trennten diesen Stamm demzufolge von den eigentlichen Pomonastämmen ab. Ob die beiden von uns als unterschiedlich befundenen Leptospirenarten eventuell die verschiedenen Krankheitsbilder erzeugten, z. B. die das WEIL-Antigen enthaltende Art das schwerere, konnten wir bis heute nicht ausfindig machen.

Rinderleptospirosen wurden auch in Australien beschrieben, wo unter anderem JOHNSON Agglutinin-titer gegen *L. pomona* vorfand. Die australische Rinderleptospirose dürfte demnach mit der in USA. vorkommenden identisch oder doch verwandt sein.

Aus dem Gebiete der Schweiz sind uns keine Rinderleptospirosen bekannt, die klinisch von Bedeutung wären. Wir selbst sowie WIKERHAUSER haben je 300 wahllos ausgelesene Rinderseren (diese waren meistens zwecks Untersuchung auf BANG-Agglutinine eingesandt worden) auf Leptospirenantikörper untersucht. Es fiel uns auf, daß 90, also etwa $\frac{1}{3}$ der von uns untersuchten Seren, hohe Agglutinin-titer (1:1000 und höher) gegenüber der *L. sejroe* und *saxkoebing* aufwiesen. Spärlicher wurden auch Agglutinine gegenüber den anderen bei uns vorkommenden Leptospirenarten festgestellt, jedoch meistens in nur geringer und deshalb nicht ohne weiteres verwertbarer Titerhöhe (1:100 bis maximal 1:400). WIKERHAUSER fand anschließend unter 300 Seren 65 (= 23%) solche mit positiven Agglutinationsreaktionen. Auch er fand hauptsächlich hohe Agglutinin-titer gegenüber der *L. sejroe* (in 50 von 300 Fällen) und vereinzelte niedrigere Titer gegenüber den anderen Leptospirenarten.

Es ist wahrscheinlich, daß unser Rindvieh, dort wo Gelegenheit besteht, sich mit Leptospiren infiziert, ohne daß manifeste oder bis jetzt benannte Krankheitserscheinungen auftreten. Wieso eine relativ hohe Prozentzahl der Tiere ausgesprochen Sejroeantikörper produzieren, ist nicht ohne weiteres erklärlich. Möglicherweise sind unsere Rinder gegenüber Sejroefektionen besonders empfindlich oder diese Immunitätsreaktionen sind irgendwie unspezifischer Natur. Auf Grund eigener Erfahrungen kann ein Zusammenhang mit Brucellosen oder Rickettsiosen verneint werden. Ob unsere Rinder Leptospiren auch ausscheiden, ist nicht bekannt und wurde bis anhin unseres Wissens auch nicht systematisch untersucht.

3. Leptospirose der Pferde. Rezidivierende Iridocyclitis.

(Periodische Augenentzündung.)

In den Jahren 1947/48 stellte HEUSSER in Zusammenarbeit mit unserem Institut fest, daß die sog. Mondblindheit der Pferde, eine rezidivierende, schließlich zur Erblindung des befallenen Auges führende Iridocyclitis, mit höchster Wahrscheinlichkeit auf eine Infektion des Tieres durch Leptospiren zurückzuführen ist.

Die frisch erkrankten Pferde zeigen nicht nur im Blute hohe Agglutinintiter gegenüber bestimmten Leptospirenarten, sondern im Augenkammerwasser der erkrankten Augen findet man, namentlich nach akuten Anfällen, zum Teil noch höhere Agglutinintiter als im Blutserum (bis 1:125000). Die Antikörpertiter, die nach Abklingen eines Anfalles allmählich wieder sinken, zeigen bei Rezidiven einen plötzlichen starken Wiederanstieg. Bis heute gelang es nicht, aus Augen oder anderen Organen erkrankter Pferde Leptospiren zu isolieren. Dies ist auch nicht ohne weiteres zu erwarten, muß doch bei diesen Iridocyclitiden zumindest eine allergische Komponente mit im Spiele sein.

Es scheint, daß nicht eine einzelne bestimmte Leptospirenart diese Iridocyclitiden verursacht, indem wir hohe Agglutinintiter feststellten gegenüber *L. grippotyphosa*, *pomona*, *australis*, *sejroe* und *icterohaemorrhagiae* (zahlenmäßig in der hier angeführten Reihenfolge). In der Ostschweiz, wo ein großer Prozentsatz der Schweinebestände pomonainfiziert ist und wo die Schweinehüterkrankheit demzufolge häufig vorkommt, fand sich auch bei den mondblindem Pferden ein vermehrtes Vorkommen von Pomona-Antikörpern, während in anderen Landesteilen, wo Pomona-Infektionen wenig bekannt sind, solche auch bei den Pferden selten festgestellt wurden.

Gleiche Befunde wie HEUSSER publizierten 1950 YAGER, GOCHENOUR und WETMORE, die in 121 untersuchten Seren von iridocyclitiskranken Pferden hauptsächlich Antikörper gegen die *L. bovis* New Jersey (Pomona-Antikörper) vorfanden.

4. Leptospirosen bei den als Leptospirenträger bekannten Tieren.

Es wäre ein Irrtum zu glauben, daß alle die Tiere (es sind namentlich Nager), die wir als Leptospirenträger kennen, die Infektion inaparent und ohne Krankheitszeichen durchmachen. Daß die Leptospirenträger nicht nur passiv sich verhaltende Brutstätten darstellen, sondern daß auch bei diesen eine Reaktion vor sich geht, d. h. eine Auseinandersetzung zwischen Mikro- und Makroorganismus stattfindet, beweist schon die Tatsache, daß die Träger alle hohe Antikörpertiter gegenüber der Leptospirenart aufweisen, mit der sie behaftet sind. Bei genauer Beobachtung kann namentlich beim Schwein, dem Pomona- und Mitisträger, ein vorübergehendes Kranksein mit Freßunlust und Symptomen von seiten des zentralen Nervensystems festgestellt werden.

SCHMID und GIOVANELLA infizierten 6 Jungschweine mit einem von uns aus dem Blute eines Schweinehüterkranken frisch isolierten Pomonastamm. Sie berichten zusammenfassend: „Von 6 künstlich infizierten Schweinen zeigten 3 Tiere 3 Wochen nach der Infektion einen leichtgradigen Temperaturanstieg (rectal bis maximal 42,0° C), Conjunctivitis und mehr oder weniger stark ausgeprägter Inappetenz. Ein Tier litt während einiger Zeit an hochgradiger Schwäche, besonders der Hintergliedmaßen, und ein anderes war längere Zeit mit Nackensteifigkeit behaftet. Fünf Tiere haben sich vollständig erholt und konnten gut ausgemästet werden, während ein weiteres plötzlich an Rotlauf zugrunde ging.“ Die Tiere zeigten von der 3. Woche an während 6 Monaten eine starke Leptospiurie.

Kürzlich haben wir selbst eine Anzahl leptospirenhaltiger Schweinenieren, die von äußerlich vollständig gesunden Tieren stammten, histologisch unter-

suchen lassen: alle Nieren wiesen eine hochgradige interstitielle Nephritis auf. Diese Tatsache dürfte vor allem bei Tieren, die nicht nur zu Mastzwecken kurzlebig gehalten werden, sondern z. B. als Zuchttiere Verwendung finden, nicht gleichgültig sein.

Ein Krankwerden beobachtet man ebenfalls bei Ratten, die mit *L. icterohaemorrhagiae* infiziert sind und einzelne der infizierten Tiere gehen sogar zugrunde. Folgendes Beispiel wirkt recht anschaulich: Ein großer Laboratoriumsrattenbestand kam als Infektionsquelle mehrerer menschlicher WEIL-Erkrankungen in Frage. Wir untersuchten eine größere Zahl Ratten im Sinne von Stichproben auf Leptospiren bzw. Leptospirenagglutinine, ohne positive Befunde erheben zu können. Darauf wurde zugewartet, bis der Tierwärter meldete, es befänden sich kranke Tiere (Freßunlust, struppiges Fell, Abmagerung) in dem Bestande. Diese als krank auffallenden Tiere wurden untersucht und wir fanden unter denselben Leptospirenträger.

Auch die Nieren infizierter Ratten weisen ausgesprochene interstitielle Entzündungserscheinungen auf.

5. Zur Frage der Leptospirenätiologie des bösartigen Katarrhalfiebers des Rindes.

Eine Zeitlang wurde vermutet, das bösartige Katarrhalfieber des Rindes könnte eine Leptospirose sein. Dieser Verdacht wurde dadurch untermauert, daß Katarrhalfieber namentlich auf feuchten Weiden und in Ställen mit feuchter Umgebung vorkommt. Ferner hatte GÖTZE in histologischen Nierenschnitten von an Katarrhalfieber erkrankten Tieren leptospirenähnliche Gebilde nachgewiesen. Zahlreiche bei uns vorgenommene Untersuchungen von Blutproben aus der ganzen Schweiz ergaben aber weder bei kultureller noch serologischer Verarbeitung irgendwelche Anhaltspunkte dafür, daß das bösartige Katarrhalfieber eine Leptospirose sein könnte. Zum gleichen Schluß kam kürzlich auch SCHMID, der aus Blut und Organen katarrhalfieberkranker Tiere weder pathogene Leptospiren zu isolieren noch entsprechende Antikörper nachzuweisen vermochte.

VI. Immunität.

A. Erworbene Immunität nach natürlicher Erkrankung. (Artfremde Zweiterkrankungen.)

Schon UHLENHUTH hat betont, daß eine „natürliche Immunität“ gegenüber pathogenen Leptospiren beim Menschen nicht besteht. Diese Feststellung stimmt mit allen seither gemachten Erfahrungen überein, wonach ein Mensch, der nie eine Leptospirose durchgemacht hat, erkrankt, wenn er mit einem virulenten pathogenen Leptospirenstamm auf geeignete Weise infiziert wird. Daß transplacentare passive Immunisierungen unter natürlichen Umständen kaum vorkommen, wurde in Kapitel V/A/3 eingehend behandelt.

Nach durchgemachter Leptospireninfektion hingegen bleibt in jedem empfänglichen und Antikörper bildenden Wirtsorganismus (also auch beim Menschen) eine gut fundierte, sich mindestens über einige Jahre erstreckende artspezifische Immunität zurück. Dieser artspezifische Schutz, der sich aus der Tatsache eines hochtitrigen Antikörpernachweises im Rekonvaleszentenserum heraus

erkenntnistheoretisch belegen bzw. voraussagen läßt, wurde auch durch die Erfahrungen der Praxis als wirklich bestehend (und sich auswirkend) bestätigt.

Es war wiederum UHLENHUTH, der sich als erster in experimentellen Arbeiten über die Immunitätsverhältnisse nach WEIL-Infektionen Klarheit zu schaffen versuchte und nachwies, daß in Rekonvaleszentenseren noch nach Jahren Schutzstoffe vorhanden sind, welche, dem Versuchstier einverleibt, je nach Schutzwert des verwendeten Serums, dasselbe in zum Teil noch großen Verdünnungen gegen das Angehen von Neuinfektionen zu schützen vermögen. Im allgemeinen ist der Schutzwert eines Serums proportional dem Agglutinintiter, wobei ein solcher von 1:80000 ungefähr einem Schutzwert von 1:100 entsprechen soll. Es hat sich aber in der Folge herausgestellt, daß Rekonvaleszentenseren auch dann noch eine Schutzwirkung ausüben können, wenn keine Leptospirenagglutinine mehr nachweisbar sind. In der Tat sind uns aus der Literatur kaum artgleiche Zweiterkrankungen bekannt.

Über eine scheinbare Zweiterkrankung (Morbus Weil) berichteten 1927 BAERMANN und ZUELZER: Ersterkrankung vom 8. 4. bis 24. 6. 26. Typisches WEIL'sches Krankheitsbild. Leptospirennachweis in Blut und Urin. Beginn der Zweiterkrankung am 12. 9. 26. Wiederum Leptospirennachweis. Krankheitsbild leichter als das erstemal. Der bei der Zweiterkrankung isolierte Leptospirenstamm war, verglichen mit demjenigen der Ersterkrankung, „biologisch verschieden“.

Genannte Beobachtung stammt aus dem Jahre 1926, aus einer Zeit also, in welcher erst die *L. icterohaemorrhagiae* als menschenpathogene Leptospire bekannt war. Abgesehen davon, daß bei dieser Leptospire Varianten vorkommen, die sich vor allem in bezug auf Antikörperbildung voneinander unterscheiden lassen, besteht ohne weiteres die Möglichkeit, daß es sich bei der Zweitinfektion gar nicht um eine echte WEIL'sche Krankheit, sondern um eine der anderen seither bekannt gewordenen Leptospirosen gehandelt hat.

Anläßlich seiner experimentellen Immunisierungsversuche an Tieren hat BRUNNER gezeigt, daß verschiedene Canicolastämme eine gute gekreuzte Immunität hervorrufen, während einzelne Icterohaemorrhagiaeastämme gegenüber anderen nur teilweise und ungenügend immunisieren. Diese Tatsache würde eine vorkommende Zweiterkrankung beim Morbus Weil erklärlich machen.

Trotz des Vorkommens zum Teil erheblicher Mit-Agglutinine in frischen Rekonvaleszentenseren kann nur mit einer artspezifischen Immunität gerechnet werden, indem diese Mit-Antikörper schon wenige Monate nach durchgemachter Krankheit nicht mehr nachweisbar sind und sich demzufolge auch nicht mehr auswirken. Wir selbst hatten in letzter Zeit Gelegenheit, in 3 Fälle von Zweiterkrankungen Einblick zu erhalten, wobei die Begleitumstände stets dieselben waren. Es genügt deshalb, einen Fall als Beispiel anzuführen:

Ein Landwirt und dessen Sohn erkrankten gleichzeitig an einer Pomona-leptospirose. Infektionsquelle sind eigene, *L. pomona*-infizierte Schweine. Ein Jahr später erkrankt der Landwirt wiederum unter Krankheitssymptomen, die sich von denjenigen der Ersterkrankung klinisch nicht unterscheiden lassen. Die serologische Untersuchung zeigt, daß es sich bei der Zweiterkrankung um eine Mitisleptospirose handelt. Infektionsquelle sind wiederum eigene Schweine, welche diesmal *L. mitis*-infiziert sind. Die Agglutinintiter im Serum betragen jetzt:

L. pomona (vom Vorjahre stammend) 1:400,
L. mitis (Neuerkrankung) 1:3200.

Weil die L. pomona und mitis in antigener Beziehung keine Verwandtschaft aufweisen, bestand auch keine gekreuzte Immunität und war die Zweiterkrankung möglich.

Über Agglutinititer, besonders Spättiter nach Leptospireninfektionen (mit Einschluß von 3 Zweiterkrankungen), mögen die in nachstehender Tabelle 15 zusammengestellten Beispiele Aufschluß geben.

Tabelle 15. Beispiele von Agglutinititern, im besonderen Spättitern nach Leptospirenkrankung, inbegriffen 3 Fälle von Zweiterkrankungen.

Nr.	Zeitpunkt nach		Agglutinititer			
	Ersterkrankung	Zweit- erkrankung				
1	15 Tage		Pomona	1:1600		
	38 Tage		Pomona	1:800		
	422 Tage	5 Tage	Pomona	1:200		
	435 Tage	18 Tage	Pomona	1:400	Mitis 1:3200	
	3 1/2 Jahre	2 Jahre	Pomona	1:100	Mitis 1:200	
2	16 Tage		Pomona	1:400		
	21 Tage		Pomona	1:800		
	2 Jahre	11 Tage	Pomona	1:200	Mitis 1:200	
	2 Jahre	16 Tage	Pomona	1:100	Mitis 1:500	
	2 Jahre	36 Tage	Pomona	1:100	Mitis 1:3200	
3	12 Tage		Pomona	1:2000		
	4 Monate		Pomona	1:400		
	1 Jahr	10 Tage	Pomona	1:100	Mitis 1:800	
4	3 Tage		Icterohaemorrhagiae	1:100		
	8 Tage		Icterohaemorrhagiae	1:8000		
	15 Tage		Icterohaemorrhagiae	1:16000		
	48 Tage		Icterohaemorrhagiae	1:16000		
	70 Tage		Icterohaemorrhagiae	1:4000		
5	15 Tage		Pomona	1:4000	Grippytyphosa 1:500	Sejroe 1:200
	3 Monate		Pomona	1:640	Grippytyphosa 1:320	Austral. 1:200
	6 1/2 Monate		Pomona	1:640	Grippytyphosa 1:320	Austral. 1:100
6	18 Tage		Mitis	1:8000		
	8 1/2 Monate		Mitis	1:400		

GSELL hat 32 Fälle von uns durchgeführter Nachuntersuchungen zusammengestellt, wobei sich folgendes Bild ergab:

Tabelle 16. Agglutininspättiter nach menschlichen Leptospirenkrankungen.

Jahre nach der Erkrankung	Anzahl der Fälle	Agglutinititer		
		negativ	1:100 bis 1:1000	über 1:1000
1—2	8	0	8	0
3	5	2	3	0
4—8	16	3	13	0
11—18	3	0	3	0
Total	32	5	27	0

Aus der Zusammenstellung in Tabelle 16 und zum Teil auch aus Tabelle 15 geht hervor, daß 2 Jahre nach Krankheitsbeginn in der Regel noch in allen Rekonvaleszenten Seren Antikörper nachweisbar sind, daß nach mehr als 2 Jahren die Agglutinine aus einzelnen Seren verschwinden können, in anderen aber bis 20 Jahre nach durchgemachter Infektion wirksam bleiben. UHLENHUTH hat jüngstens (laut mündlicher Mitteilung) nachgewiesen, daß 0,01 cm³ 1950 entnommenes Serum eines Mannes, der 1916 eine WEILsche Krankheit durchmachte, Meerschweinchen gegen eine vielfach tödliche Dosis von WEIL-Leptospiren zu schützen vermochte.

B. Künstliche Immunisierung.

1. Aktive Immunisierung.

Nachdem natürlich entstandene Leptospireninfektionen eine ausgesprochene und gut kontrollierbare Immunität hinterlassen, muß es auch möglich sein, gegen diese Erkrankungen künstlich aktiv wie passiv zu immunisieren. Daß man es sich dabei angelegen sein läßt, in erster Linie gegen die schwer verlaufenden Krankheitsformen, d. h. gegen WEILsche und Weil-ähnliche Krankheiten beim Menschen und gegen die Canicolaleptospirose beim Hunde zu immunisieren, während ähnliche Maßnahmen gegenüber den benignen Leptospirosen in der Regel zum vornherein dahinfallen, liegt auf der Hand. So hat namentlich INADA schon kurz nach der Entdeckung der Ätiologie der WEILschen Krankheit in japanischen Kohlenbergwerken prophylaktische Immunisierungsmaßnahmen eingeleitet und 1922 darüber berichtet. WANI hat sich in der Folge speziell mit der Herstellung von Impfstoffen befaßt und 1933 Bericht erstattet. Nach WANI erkrankten während der gleichen Zeitdauer in derselben Kohlenmine von 3655 geimpften Mineuren deren 5 = 0,13% und von 2262 nichtgeimpften Mineuren deren 70 = 3,1%. Andere Statistiken erwähnen noch bessere Resultate, sind aber in bezug auf Vergleichsmöglichkeiten zu wenig präzise gefaßt.

Als Impfstoffe wurden verwendet:

- a) Lebende, avirulente Leptospirenstämme.
- b) Hitzeabgetötete Leptospirenstämme (2mal 30 min auf 56° C erhitzt).
- c) Durch Chemikalien abgetötete Leptospirenstämme (Phenol, Formaldehyd, Kupfer).

Daß die Anwendung abgetöteter Leptospiren sympathischer ist und deshalb Impfstoffe mit lebenden Leptospiren selten Verwendung fanden, braucht kaum betont zu werden. Bei der Herstellung der Impfstoffe wurden die Leptospiren durch Zentrifugieren konzentriert. Zur Immunisierung benötigte man 2—3 Injektionen, vorgenommen in Abständen von etwa 1 Woche. Von Ausnahmen abgesehen verliefen diese Impfungen ohne störende Allgemeinerscheinungen und wurden ohne weiteres ertragen.

Über schmerzliche Erfahrungen bei Immunisierungsversuchen an 5 Personen mit lebenden Leptospiren konnte 1938 VAN THIEL berichten. Obwohl ein für das Meerschweinchen nicht mehr virulenter Leptospirenstamm verwendet wurde, erkrankten alle 5 Versuchspersonen an einer wenn auch atypischen, so doch ziemlich schweren WEILschen Krankheit. Man sieht aus diesem Versuch, wie auch der Begriff der Virulenz nur ein relativer ist.

In den Jahren 1947 und 1948 haben sich dann MEYER und BRUNNER eingehend mit experimentellen Immunisierungsversuchen befaßt. Sie stellten ein sog. „lyophilized antigen“ her, indem die ausgewachsene Leptospirenkultur bei 14000 Umdrehungen je Minute während 1 Std zentrifugiert worden war und das Sediment tiefgefroren und getrocknet wurde. Die Autoren waren der Auffassung, durch dieses Verfahren die Antigene am wenigsten zu schädigen. Zum Gebrauch wurde die Trockenvaccine mit einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung wieder gelöst. Als Vergleich diente eine Formolvaccine, die mit der gleichen Ausgangsmenge desselben Leptospirenstammes hergestellt worden war.

Für die ersten Versuche wurde ein virulenter Canicolastamm verwendet, Testtier war der Goldhamster. Die Tiere wurden in Abständen von 6 Tagen mit 2 Antigendosen immunisiert und 15 Tage später mit dem gleichen, aber lebenden Leptospirenstamm intraperitoneal infiziert. Von 27 mit verschiedenen Dosen des „lyophilized antigen“ vorbehandelten Hamstern starb nach der darauffolgenden Infektion 1, von 27 mit „formalin-killed antigen“ immunisierten Tieren starben 6 und von 27 nicht vorbehandelten Tieren alle 27.

In weiteren Versuchen wurde gezeigt, daß eine durch Kältetrocknung hergestellte Vaccine, in deren Ausgangsmaterial 80000 L./cm³ enthalten waren, wirksamer war, als eine Formalinvaccine, deren Ausgangsmaterial 180000 L./cm³ enthielt. Eine Immunisierung mit dem „lyophilized antigen“ hat auch bei einer Serie von Versuchshunden zu ausgezeichneten Ergebnissen geführt, so daß die Herstellung von Impfstoffen durch Kältetrocknung künftig die Methode der Wahl zu sein scheint. Die genauen Herstellungsvorschriften werden im technischen Teil wiederholt und präzisiert werden.

2. Passive Immunisierung.

Die passive Immunisierung mit Immunsereen hat im therapeutischen Handeln kaum Eingang gefunden. Es bestände höchstens dann Aussicht auf Erfolg, wenn eine Anwendung in den ersten Krankheitstagen gleichsam prophylaktisch möglich wäre. Eine sichere artspezifische Frühdiagnose wird aber höchstens bei Gruppenerkrankungen möglich sein. Zur Coupierung von Frühfällen werden heute die neuen Antibiotica bevorzugt, die im Vergleich mit einem Immunsereum den Vorteil polyvalenter, nicht artgebundener Wirksamkeit haben. Daß aber eine vorübergehende Immunisierung mit Immunsereum möglich ist, beweisen unter anderem die Schutzversuche UHLENHUTHs.

VII. Epidemiologie.

A. Allgemeine Gesichtspunkte.

Will man sich über die epidemiologischen Verhältnisse bei den Leptospiren Klarheit und einen umfassenden Überblick verschaffen, muß man sich vergegenwärtigen, daß sämtliche Leptospirosen als Zoonosen aufzufassen sind und man hat sich über folgende 3 Kardinalpunkte im klaren zu sein:

1. Über die Lebensbedingungen der Leptospiren, vor allem, daß sie nur in feuchtem, nicht saurem Milieu existieren können (s. Kapitel II).

2. Über die Art der tierischen Träger. Jede Leptospirenart besitzt eine abgegrenzte Tiergruppe, die ihr als Wirt dient, bzw. an die sie sich angepaßt hat (s. Kapitel II/B).

3. Über direkte und indirekte Kontaktmöglichkeiten mit solchen Leptospiren-trägern.

Bekanntlich können bestimmte Tiere (Ratten, Mäuse, Schweine, Hunde, Rinder usw.) Leptospirenträger sein und die Leptospiren über lange Zeit mit dem Urin ausscheiden. Menschliche Infektionen kommen dadurch zustande, daß der Mensch mit Tieren und damit auch mit deren Exkrementen direkten Kontakt hat oder daß die Leptospiren von der Außenwelt, z. B. aus Wasser, das durch Wirtstiere verunreinigt worden ist, in den menschlichen Organismus gelangen. Daß jene namentlich durch Hautdefekte in unseren Körper eintreten, wurde schon früher dargelegt. Die Tatsache, daß gewisse Haus- und Nagetiere unserer Umgebung Leptospirenreservoirs sind und die Leptospiren in großer Menge ausscheiden können, daß die Leptospiren ein Eintrocknen nicht überleben und daß der Mensch demzufolge, um erkranken zu können, mit feuchtem, leptospirenhaltigem Milieu in Berührung kommen muß, umrahmt eigentlich alle praktisch vorkommenden epidemiologischen Möglichkeiten.

Übertragung durch Insekten sind theoretisch möglich, wurden aber unseres Wissens mit Sicherheit nie nachgewiesen.

Übertragungen von Mensch zu Mensch spielen ebenfalls praktisch keine Rolle. Die Leptospiren werden im Urin des Menschen im allgemeinen nur kurze Zeit und in unbedeutender Menge ausgeschieden. Die normalerweise saure Reaktion des menschlichen Urins schädigt die Leptospiren rasch, so daß aus diesem Grunde die weiteren Verbreitungsmöglichkeiten gering sind. Transplacentare Infektionen sind im Meerschweinchenversuch gelungen, wurden beim Menschen aber nie beobachtet. Eine von DOELEMANN beschriebene WEIL-Übertragung durch Coitus (der ♂ Partner war WEIL-Rekonvaleszent) dürfte eine sich nicht häufig wiederholende Rarität bedeuten.

B. Leptospirenausscheider.

1. Mensch.

Über die Leptospirenausscheidung beim Menschen, die epidemiologisch kaum von Bedeutung ist, bestehen wenig genaue Angaben. INADA hat bei 17% seiner WEIL-Fälle vom 10. Krankheitstage an Leptospiren im Urin nachgewiesen, und KORTHOFF gelang der Nachweis angeblich immer, wenn er vom 9.—16. Krankheitstag einem Meerschweinchen täglich Patientenurin einspritzte. Die Leptospirenausscheidung soll unterschiedlich lange andauern; JOHNSON beobachtete in Australien einen Fall mit 11 Monate dauernder Leptospirurie.

2. Ratten.

Bei den Ratten variiert der Prozentsatz der Leptospirenausscheider stark; je nach Herkunft der Ratten können alle oder gar keine befallen sein. Aus dieser starken Divergenz der Rattendurchseuchung muß geschlossen werden, daß dieselben sich relativ leicht infizieren, sobald der Erreger einmal in die Bestände eingeschleppt ist. Laut vielfältigen Angaben ist bei Ratten mit einer durch-

schnittlichen Ausscheidungsdauer von 2—4 Monaten zu rechnen. Nach WALCH-SORGDRAGER wurden in Amsterdam gefangene wilde Ratten während $2\frac{1}{2}$ Jahren gehalten und beobachtet; sie haben während der ganzen Beobachtungszeit, wenn auch in unterschiedlicher Menge, Leptospiren ausgeschieden.

3. Mäuse.

Bei den Mäusen liegen in bezug auf Ausscheidungsdauer ähnliche Verhältnisse vor wie bei den Ratten. Über die relative Zahl infizierter Individuen mögen nachfolgende Zahlen Aufschluß geben: SCHÜFFNER und BOHLANDER fanden die *L. grippotyphosa* in den Nieren von 47% der in Holland und Bayern gefangenen Feldmäuse. RIMPAU stellte fest, daß die Feldmäuse in Bayern, Sachsen, Preußen und Mecklenburg zu 10—20% leptospireninfiziert sind. Ähnliche Befunde erhoben KATHE in Schlesien und UHLENHUTH in verschiedenen Teilen Deutschlands, ferner GSELL und RIMPAU in der Schweiz, wo unter 49 Mäusen 10% positive Befunde aufwiesen. Alle Autoren gehen darin einig, daß die zahlenmäßige Leptospirenbesiedlung der Mäuse regional stark verschieden ist. KATHE zeigte in einem künstlich angelegten Mäusedorf, in welchem er den Rasenboden mit einer Grippotyphosareinkultur infizierte, wie die Infektion der Mäuse relativ rasch vor sich geht.

Wir selbst verfügen über zu wenig große und zu wenig systematische durchgeführte Untersuchungsreihen, um Prozentzahlen angeben zu dürfen. Immerhin konnten auch wir in der Schweiz den Zusammenhang zwischen Mäusen als Leptospirenträgern und menschlichen Feldfiebererkrankungen unter Beweis stellen.

4. Schwein.

Wir selbst stellten auf Grund von Untersuchungen an Schweinen, die in äußerlich gesundem Zustand ins Schlachthaus kamen, fest, daß unter 200 Schweinen ostschweizerischer Herkunft 75% hochtitrige Pomona- und von 70 Schweinen 53% ebensolche Mitis-Agglutinine aufwiesen. Diese hohen Durchseuchungszahlen sind ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß die Hauptzahl der Schweine aus Großbeständen von mehreren hundert Tieren stammten. Wenn die Leptospiren in einem solchen Bestand Eingang gefunden haben, sind in kurzer Zeit alle beisammen lebenden Tiere infiziert. Anlässlich dieser Serienuntersuchungen sowie auch bei Untersuchung einzelner Bestände konnten wir uns immer wieder vergewissern, daß die Leptospirurie beim Schwein keine dauernde ist. Wir stießen stets auf zahlreiche Schweine, deren hoher Antikörpergehalt auf eine durchgemachte Infektion deutete, ohne daß im Urin bzw. den Nieren Leptospiren nachzuweisen waren.

SCHMID und GIOVANELLA haben Jugschweine mit einem frisch von einem Menschen isolierten Pomonastamm infiziert. Die Infektion gelang „parenteral, percutan durch die Rüssel und Nasenschleimhaut sowie durch natürlichen Kontakt“. Leptospirenausscheidung im Urin wurde von der 3. Woche nach der Infektion bis zum 6. Monat und zum Teil darüber hinaus beobachtet.

Es wurde mit Recht die Frage aufgeworfen, ob für die Übertragung der *L. pomona* nur das Schwein verantwortlich sei, oder ob auch Ratten mitbeteiligt seien. Der Satz „wo Schweine sind, sind auch Ratten“ gilt ja zu Recht.

Wir selbst konnten bei Ratten nie Pomonaleptospiren oder entsprechende Antikörper nachweisen, dagegen will BABUDIERI bei einer Ratte die *L. pomona* gefunden haben.

Kürzlich traten in einem Anstaltsbetrieb mehrere menschliche Pomonaleptospiroosen auf. Untersuchungen in den Schweinbeständen zeigten, daß dieselben pomonainfiziert waren. Sämtliche Erkrankten gaben an, tote Ratten, die gefangen worden waren, in den Händen gehabt zu haben. Wir hatten daraufhin Gelegenheit, 21 lebend gefangene Ratten auf Leptospiren, bzw. Leptospirenagglutinine zu untersuchen, konnten aber bei keiner der Ratten Anzeichen einer bestehenden oder durchgemachten Pomona-Infektion feststellen. Vier Ratten wiesen einzig WEIL-Antikörper in einer Titerhöhe von 1:400 und darüber auf.

Wer je pomonabehaftete Schweineurine untersucht hat, begreift ohne weiteres, daß zur Übertragung dieser Leptospiren auf andere Schweine bzw. auf Menschen keine weiteren Zwischenträger notwendig sind.

KOLOCHINE-ERBER teilte 1950 mit, anlässlich von serologischen Schweineuntersuchungen bei 5 Tieren *L. bataviae*-Agglutinine gefunden zu haben. Wir selbst konnten in der Schweiz bei Menschen und Tieren nie Batavia-Antikörper nachweisen. Es gelang bis jetzt einzig 1950 in 2 menschlichen Seren, die uns aus Bulgarien zugeschickt worden waren, *L. bataviae*-Agglutinine in einer Höhe von 1:1000, bzw. 1:52000 festzustellen.

5. Rind.

Über Leptospirenausscheidung beim Rind besitzen wir keine genauen Angaben. In Palästina sind nach BERNKOPF und OLITZKI bei 7—70% der Rinder Agglutinititer vorhanden. Leptospirenkranke Kühe mit Mastitiden scheiden die Leptospiren auch in der Milch aus.

Die Zahl der mit dem Urin ausgeschiedenen Leptospiren ist zum Teil ganz bedeutend. Wir sahen verschiedentlich infizierten Schweineharn, dessen Leptospirenbesiedlung mindestens so dicht war, wie diejenige der besten ausgewachsenen artefiziellen Leptospirenkultur.

Bei allen Leptospiroosen, die eine Mitbeteiligung der Leber aufweisen und wo die Leptospiren herdweise im Leberparenchym vorkommen, werden dieselben mit der Galle in den Darm ausgeschieden und können auch auf diesem Wege an die Außenwelt gelangen.

C. Geographisches Vorkommen der Leptospiren.

Grundsätzlich können Leptospiren auf der ganzen Erde dort vorkommen, wo deren Trägiertiere zu existieren vermögen bzw. durch Verkehrsmittel hingenommen. Tatsächlich wurde die am universellsten untersuchte *L. icterohaemorrhagiae*, deren Träger fast ausschließlich Ratten, in erster Linie die ubiquitär vorkommende Wanderratte ist, auf allen Erdteilen festgestellt. Wie aus unserer im Kapitel III deponierten Zusammenstellung über die einzelnen Leptospirenarten und deren Vorkommen hervorgeht, finden sich auch andere Leptospirenarten auf allen Erdteilen. Deren Erfassung hängt aber nicht nur vom effektiven Vorhandensein ab. Die Zahl nachgewiesener Leptospirenerkrankung und Lepto-

spirenarten ist doch wohl weitgehend auch eine Funktion der Intensität und der Sachkenntnis beim Fahren nach Leptospiren. So betont UHLENHUTH noch



Abb. 8. *Leptospira grippotyphosa*.



Abb. 9. *Leptospira Sejroe*.

heute, daß er die *L. icterohaemorrhagiae* entdeckt habe, weil er im Kriege Befehl erhielt, die Ursache der WEILschen Krankheit ausfindig zu machen, genau wie ROBERT KOCH seinerzeit Befehl hatte, die Ursache der Cholera aufzudecken.

Detaillierte, aus der gesamten Leptospiroliteratur zusammengetragene Angaben über das Vorkommen einzelner Leptospirolarten in bestimmten geographischen



Abb. 10. *Leptospirosis australis*.



Abb. 11. *Leptospirosis pomona*.

Gebieten findet man vor allem in den Arbeiten von GSELL, VAN THIEL und WALCH-SORGDRAGER. Auf eine entsprechende Wiedergabe wird hier willentlich verzichtet, einmal um nicht einfach zu wiederholen, dann, weil das wesentliche

in Kapitel III/B dieser Arbeit festgehalten ist und schließlich auch deshalb, weil viele der Angaben in irgendeiner Weise unvollständig sind.



Abb. 12. Leptospirosis mitis.

Wir beschränken uns in der Folge auf eine eingehendere Aussprache über unsere schweizerischen Verhältnisse, wo es uns möglich ist, weitgehendst aus eigener Anschauung zu schöpfen.

Nachstehende Tabelle 17 gibt Aufschluß über Art und Zahl der Leptospiren, die in den Jahren 1944—1949 in unserem Institut diagnostiziert worden sind.

Tabelle 17. Zahl und Art der 1944—1949 im Bakteriologischen Institut St. Gallen diagnostizierten Leptospiren.

	1944	1945	1946	1947	1948	1949	Total
<i>L. grippotypbosa</i>	9	4	17	1	8	19	58
<i>L. sejroe</i>	3	5	15	4	20	7	44
<i>L. australis</i> A.	3	2	4	5	12	5	31
<i>L. pomona</i>	13	27	31	33	37	61	202
<i>L. mitis</i> (JOHNSON)	—	—	—	7	10	20	37
<i>L. canicola</i>	1	3	5	0	4	6	19
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> (WEIL)	2	2	3	17	12	8	44
<i>L. autumnalis</i>	—	—	—	—	1	1	2
Total	31	43	75	67	94	127	437

Die 2 angeführten Autumnalisfälle wurden serologisch (ohne Leptospirennachweis) diagnostiziert. Beide Fälle imponierten klinisch als WEILsche Erkrankungen. Wir konnten dieselben nicht weiter verfolgen, weil der eine außer Landes (Strasbourg) sich befand und der andere nach kurzer Krankheitsdauer starb. Nachdem kein Leptospirennachweis vorliegt und auch keine serologischen Nachuntersuchungen gemacht werden konnten, möchten wir mit der Behauptung, daß es sich sicher um Autumnalisinfektionen gehandelt habe, zurückhalten.

Betreffs Zahl von Sejroeleptospirosen siehe Bemerkungen im Anschluß an die Zusammenstellung über die Berufe der Leptospiroseerkrankten.



Abb. 13. Leptospirosis canicola.



Abb. 14. Weilsche Krankheit.

Die in Tabelle 17 angeführten Leptospirosen verteilen sich innerhalb des Gebietes der Schweiz wie aus den Abb. 8—14 ersichtlich.

Um über epidemiologische Fragen ein eigenes Urteil gewinnen zu können, haben wir seit 1946 beim Vorliegen positiver serologischer Befunde von unserer

Leptospirenuntersuchungsstation aus den behandelnden Ärzten bzw. Spitalabteilungen zusammen mit dem Untersuchungsergebnis stets einen Fragebogen zugestellt, in welchem wir unter anderem Auskunft wünschten über Krankheitsdauer (zur Zeit der Entnahme der zur Untersuchung gelangten Blutprobe), Alter, Wohnort und Beruf des Patienten, Tierkontakt, speziell mit den in Frage kommenden Leptospirenträgern, klinische Angaben und Besonderheiten.

Die behandelnden Ärzte haben uns die Fragen fast ausnahmslos postwendend beantwortet, so daß wir im Laufe der Zeit nicht nur einen Begriff von der Konstanz der klinischen Krankheitsbilder bekamen, sondern auch einen guten Einblick in das epidemiologische Geschehen. Gegebenenfalls waren wir in der Lage, interessant erscheinende Umgebungsuntersuchungen durchzuführen.

D. Berufsklassen, Alters- und Geschlechtsverteilung bei menschlichen Leptospiren. Abhängigkeit von jahreszeitlichen und Witterungseinflüssen.

1. Berufsklassen.

Die Patienten der von uns 1946, 1947, 1948 und 1949 festgestellten Leptospiren gehören folgenden Berufsklassen an:

L. grippotyphosa:		
In landwirtschaftlichen Betrieben tätig, einschl. Kinder von Landwirten	34	
Nach Sumpfbad erkrankt	2	
Unbekannt	9	45
L. sejroe:		
In landwirtschaftlichen Betrieben tätig	18	
Hausfrau	1	
Käser	6	
Metzger	4	
Schweinehirt, Maurer, Gärtner	4	
Militärdienst	1	
Unbekannt	2	36
L. australis A.:		
In landwirtschaftlichen Betrieben tätig, einschl. Kinder und Hausfrauen (2)	17	
Maurer und Mechaniker vom Land, Käser	3	
Hausbursche	1	
Unbekannt	5	26
L. pomona:		
Käser	44	
Schweinehüter	37	
Metzger	20	
Landwirte mit Schweinen, einschl. Kinder und Arbeiter, die im Schweinestall tätig waren	38	
Kind von Schweinehändler	1	
Kind von Milchmann mit Schweinen	1	
Hausfrau, die mit Schweinefleisch zu tun hatte	2	
Unbekannt	19	162
L. mitis:		
Käser, einschl. Kinder	14	
Metzger	8	
Schweinehüter	6	
Landwirte	4	
Maurer im Schweinestall	1	
Kindermädchen	1	
Unbekannt	3	37

L. canicola:

Kontakt mit kranken Hunden	8	
Kontakt mit Katzen	1	
Unbekannt	6	15

L. icterohaemorrhagiae:

Gebadet in Flüssen und Seen	10	
Tierwärter, Laboranten, Rattenzüchter	9	
Abwasserarbeiten, Mineur (1)	4	
Müller, Metzger, Bäcker, Küchenhilfe	4	
Landwirt, Kaminfeger, Gärtner	3	
Schüler (Besuch auf Bauernhof)	1	
Soldaten	2	
Unbekannt	7	40

2. Lebensalter und Geschlechtszugehörigkeit.

Abgesehen von diesen eingehenderen, seit 1946 durchgeführten Nachforschungen konnten wir in Zusammenarbeit mit der Medizinischen Klinik St. Gallen (GSELL) total 470 Leptospirosen nach Alter und Geschlechtszugehörigkeit sowie nach jahreszeitlichem Auftreten ordnen. 437 dieser Fälle (s. Tabelle 17) wurden von uns in den Jahren 1944—1949 diagnostiziert, die übrigen 33 Fälle sind vor 1944 auf der Medizinischen Klinik St. Gallen behandelte Patienten, deren Serum entweder seinerzeit von RIMPAU in München geprüft oder hernach durch uns untersucht worden ist.

Über Alters- bzw. Geschlechtsverteilung dieser 470 Fälle geben nachfolgende Zusammenstellungen der Tabellen 18 und 19 Aufschluß:

Tabelle 18. *Altersverteilung.*

Alter	<i>L. grippotyphosa</i>	<i>L. sejroe</i>	<i>L. australis</i>	<i>L. pomona</i>	<i>L. mitis</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	<i>L. autumnalis</i>	Total	
									Anzahl	%
1—9	1	—	3	6	—	1	1	—	12	3
10—19	19	11	9	62	10	4	8	—	123	28
20—29	22	15	8	69	17	2	15	—	148	34
30—39	15	9	2	35	4	4	6	—	75	17
40—49	6	4	3	22	2	3	9	1	50	11
50—59	3	4	4	5	2	2	3	—	23	5
60—69	1	—	—	2	2	2	1	—	8	2
70—79	—	—	—	2	—	—	—	—	2	< 0,5
Unbekannt	4	4	4	14	—	1	1	1	29	
Total	71	47	33	217	37	19	44	2	470	

Tabelle 19. *Geschlechtsverteilung.*

	Total	Männer		Frauen	
		Anzahl	%	Anzahl	%
Grippotyphosa	71	56	79	15	21
Sejroe	47	46	98	1	2
Australis	33	27	82	6	18
Pomona	217	203	94	14	6
Mitis	37	35	95	2	5
Canicola	19	16	84	3	16
Icterohaemorrhagiae	44	38	86	6	14
Autumnalis	2	2	100	0	0
	470	423	90	47	10

3. Jahreszeitliches Auftreten.

Eine Zusammenstellung der Fälle nach jahreszeitlichem Auftreten sieht folgendermaßen aus:

Tabelle 20. Jahreszeitliches Auftreten der Leptospirosen.

	L. grippotyphosa	L. sejroe	L. australis A	L. pomona	L. mitis	L. canicola	L. icterohaemorrhagiae	L. autumnalis
Januar	1	1	—	7	1	—	1	—
Februar	—	2	1	5	—	1	—	—
März	1	2	1	11	1	1	1	—
April	2	—	—	10	2	2	1	—
Mai	—	3	1	15	2	—	1	—
Juni	4	3	4	18	3	—	3	—
Juli	13	5	3	23	6	3	4	—
August	20	2	12	34	8	6	11	—
September	17	10	4	31	4	1	10	—
Oktober	3	9	1	22	4	3	4	1
November	1	5	1	9	3	—	3	—
Dezember	—	—	1	10	2	—	2	—
Unbekannt	9	5	4	22	1	2	3	1
Total	71	47	33	217	37	19	44	2

Wir haben die einzelnen Leptospirosen entsprechend der Art gemeinsamer Leptospirenträger in Gruppen zusammengefaßt und die Zahl dieser Gruppen-erkrankungen nach jahreszeitlichem Auftreten graphisch dargestellt.

Die Gruppen setzen sich wie folgt zusammen:

Tabelle 21.

Erkrankung	Leptospiirenarten	Leptospirenträger
Feldfieber Schweinehüterkrankheit Canicolaleptospirose WEIL'sche Krankheit	Grippytyphosa, Sejroe, Australis Pomona, Mitis Canicola Icterohaemorrhagiae, Autumnalis	Mäuse Schwein Hund Ratten

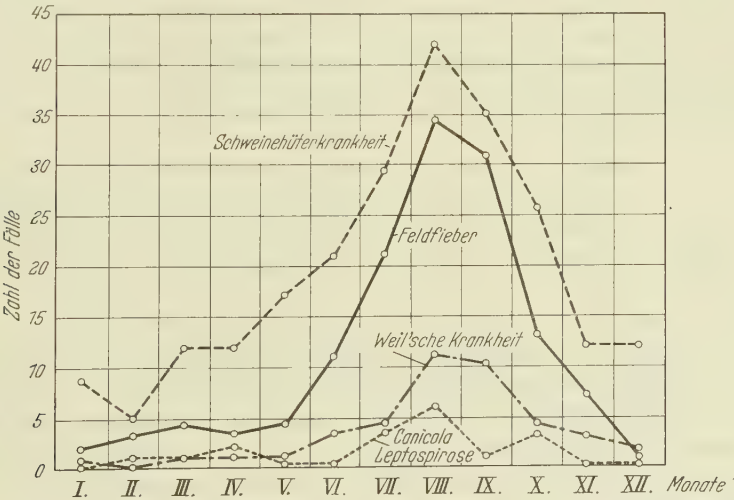


Abb. 15. Graphische Darstellung der Leptospiroseerkrankungen, bezogen auf jahreszeitliches Auftreten.

Überblickt man die voranstehenden, nach verschiedenen Gesichtspunkten erfolgten Zusammenstellungen, treten gewisse Characteristica mit außer-gewöhnlicher Deutlichkeit hervor.

1. *Berufsklassen.* Die Grippotyphosa-, Sejroe- und Australiserkrankungen stammen aus landwirtschaftlichen Betrieben oder haben sonst wie nachweisbaren Kontakt mit Mäusen und deren Exkrementen.

Es mag auffallen, daß sich unter den Sejroe erkrankten 6 Käser und 4 Metzger befinden. Dazu ist zu sagen, daß wir vermutlich am Anfang unserer Leptospirenuntersuchungen Sejroeleptospirosen diagnostizierten, die effektiv Pomonaleptospirosen waren. Man findet bei den menschlichen Pomona-Infektionen stets hoch-titrige Sejroe-Mit-Agglutinationen. Diese sind vor allem zu Beginn des Auftretens von Antikörpern sehr oft ausgeprägter als die Pomona-Agglutinine selbst, so daß in Unkenntnis dieses Phänomens fälschlicherweise auf Sejroeleptospiriose geschlossen wird, während Nachuntersuchungen oder angegangene Kulturen eindeutig beweisen, daß es sich um eine Pomonaerkrankung handelt.

Die Pomona- und Mitiserkrankten hatten Schweine besorgt oder geschlachtet.

Die Canicolaerkrankten waren mit befallenen Hunden in Berührung gestanden.

Die WEIL-Erkrankungen waren auf Rattenkontakt zurückzuführen (Baden in stagnierenden Gewässern. Arbeiten in Kanalisationsanlagen, Kontakt mit weißen, nachweisbar befallenen Laboratoriumsratten).

So zeigt sich mit selten zu verzeichnender Eindeutigkeit, wie das Auftreten der einzelnen Leptospirenarten an direkten oder indirekten Kontakt mit bestimmten Tierreservoirs gebunden ist, wie auch auf Grund dieser Feststellungen die einzelnen Leptospirenarten nur in ausgewählten Wirtstieren vorzukommen scheinen und wie sich somit die Art (oder doch Gruppen von Arten) der Leptospiren bis zu einem gewissen Grade auf Grund der Leptospirenträger voneinander abgrenzen lassen.

2. *Lebensalter und Geschlechtszugehörigkeit der Patienten* (Tabelle 18 und 19). Daß vor allem die mittleren und jüngeren Jahrgänge Leptospirenaffektionen durchmachen (80% entfallen auf die Altersstufen von 10—40 Jahren) und daß 90% aller Leptospirosen beim männlichen Geschlecht auftreten, hängt fast ausschließlich mit deren Beschäftigung und der damit verbundenen Infektionsmöglichkeiten zusammen. Selbstverständlich sind Frauen für Leptospiren genau gleich empfänglich wie Männer.

3. *Jahreszeitliche Verteilung.* Leptospiren kommen zu allen Jahreszeiten vor, wenn sie sich auch in den Sommermonaten häufen. Hält man sich die graphische Darstellung in Abb. 15 vor Augen, fällt auf, daß die Feldfiebererkrankung zur warmen Jahreszeit in stärkerem Maße zunimmt, als z. B. die Schweinehüterkrankheit.

Selbstverständlich scheiden die Leptospirenträger Sommer und Winter Leptospiren aus. Teilweise vermögen sich dieselben während der warmen Jahreszeit außerhalb der Wirtstiere länger zu halten als im Winter. Vor allem aber sind die Kontaktmöglichkeiten für den Menschen im Sommer viel größer, weil sich dann die Leute in höherem Maße entblößen (Barfußgehen, Baden) und weil viele Arbeiten, namentlich auch auf den Feldern, nur im Sommer und Herbst ausgeführt werden.

4. Abhängigkeit von der Witterung.

Während die durch Schweine und Hunde übertragenen Erkrankungen mehr oder weniger witterungsunabhängig sind, zeigt sich bei den mit Mäusen und Ratten in Zusammenhang stehenden Leptospirosen (soweit es sich nicht um Laboratoriumsinfektionen handelt) eine weitgehende Abhängigkeit von den Wetterverhältnissen. Ein sinnfälliges Beispiel liefern die Jahre 1947 und 1948. Das Jahr 1947 war ausnehmend trocken. Wir diagnostizierten in diesem Jahre eine einzige Grippotyphosainfektion und diese stammte aus dem Kanton Appenzell, einer Gegend, die wegen der besonderen atmosphärischen Verhältnisse um den Säntis noch relativ häufig Niederschläge zu verzeichnen hatte. Im Gegensatz zu den fehlenden Grippotyphosaerkrankungen konnten wir 1947 insgesamt 17 WEIL-Fälle feststellen, eine für schweizerische Verhältnisse ausnehmend hohe Zahl. Wegen der Trockenheit waren die Wasser der kleineren Flußläufe stagnierend geworden und in den Kanalisationsanlagen hatten sich die Ratten gewaltig vermehrt, indem während des ganzen Jahres nie Hochwasser kam, welches die jungen Bruten fortschwemmte und vernichtete. — Der Sommer 1948 war im Gegensatz zu 1947 niederschlagsreich und wir diagnostizierten in dieser Saison 11 Grippotyphosa- bzw. 34 Feldfieberfälle (*L. grippotyphosa*, *sejroe* oder *australis*) gegenüber total 10 solcher Fälle im Vorjahre.

E. Prophylaxe.

1. Allgemeinprophylaktische Maßnahmen.

Aus der Kenntnis über die epidemischen Begebenheiten bzw. das Zustandekommen der Erkrankungen ergeben sich ohne weiteres die zur Verhütung derselben zu ergreifenden Maßnahmen:

a) Kontakt mit leptospirenhaltigem Material vermeiden oder, wo dies nicht möglich ist, die Haut durch geeignete Kleidungsstücke (Schuhe, Gummihandschuhe) abdecken, namentlich dann, wenn die Haut nicht vollkommen intakt ist. All dies ist relativ leicht möglich und wird ohne weiteres gemacht werden, wenn die Infektiosität des Milieus bekannt ist. Daß die gesunde und intakte Haut einen guten Schutz bietet, wurde schon früher betont. Wir selbst haben während 7jähriger experimenteller Arbeiten mit Leptospiren keine Laboratoriumsinfektion erlebt.

b) Die Ausscheidung der Leptospirenträger bekämpfen.

aa) Durch Vernichtung derselben oder

bb) durch Isolieren derselben oder

cc) durch Behandlung derselben (Antibiotica). Darüber wird anschließend ausführlicher berichtet.

c) Desinfektion der infizierten Medien.

aa) Durch vollständige Austrocknung derselben

bb) mit Hilfe allgemeingebräuchlicher Desinfektionsmittel, eventuell durch Ansäuerung des Milieus.

d) Aktive Immunisierungsmaßnahmen, wobei zur Impfstoffherstellung wenn möglich diejenigen Leptospirenstämme verwendet werden sollen, die in dem

befallenen Gebiet selbst isoliert werden konnten. Über aktive Immunisierung s. im übrigen Kapitel VI/B/1.

2. Behandlung der Leptospirenträger mit Antibiotica.

Will man bei Leptospirenträgern die Leptospirurie beheben, kommt unseres Wissens nur die Anwendung von antibiotischen Mitteln in Frage.

a) *In vitro-Versuche.* aa) Penicillin: wir selbst haben in zahlreichen Versuchsreihen die Wirkung des Penicillins auf Leptospiren unter Beweis gestellt, wobei zwischen der Empfindlichkeit der einzelnen Leptospirenarten kein faßbarer Unterschied festzustellen war.

0,2—0,4 E Penicillin je 1 cm³ Nährsubstrat vermochten nicht nur die Vermehrung der Leptospiren zu verhindern; die Leptospiren gingen bei dieser Penicillinkonzentration innerhalb weniger Stunden zugrunde (wurden unbeweglich) und verfielen innerhalb von höchstens 24 Std der vollständigen Auflösung.

Bei 0,1 E Penicillin je 1 cm³ Nährsubstrat konnten sich alle Leptospiren ungehindert entwickeln, bei 0,8 E gingen alle innerhalb kurzer Zeit ausnahmslos zugrunde.

bb) Streptomycin: JIROVEC hat gezeigt, daß sich bei 5 und 2 E (= Mikrogramm) Streptomycin je 1 cm³ Nährsubstrat kein Leptospirenstamm weiter entwickeln kann.

cc) Aureomycin: BRUNNER und MEYER orientierten sich vorerst mit Hilfe von in vitro-Versuchen über die Wirkungsweise des Aureomycins und zeigten, daß 1% Aureomycin innerhalb von 50—64 Std bactericide Wirkung auf Leptospirenstämme hat, wobei der Effekt bei Anwendung höherer Aureomycindosen nicht wesentlich besser ist.

b) *Tierexperimentelle Versuche.* MEYER und BRUNNER haben in eingehenden tierexperimentellen Arbeiten, bei welchen sie Canicola- und Icterohaemorrhagiastämme als Infektionserreger und namentlich Goldhamster wie auch Hunde als Versuchstiere verwendeten, gezeigt, daß alle 3 genannten Antibiotica (Penicillin, Streptomycin, Aureomycin) in der akuten Phase der Krankheit die Septicämie zu coupieren vermögen, daß aber die mit Penicillin behandelten Tiere trotz der Therapie anschließend Leptospiren ausscheiden, während dies bei Behandlung mit Streptomycin und Aureomycin nicht der Fall ist.

Die septicämischen Tiere wurden 3—5 Tage lang behandelt, wobei folgende Dosen von Antibiotica zur Anwendung kamen:

<i>Goldhamster:</i>	Penicillin:	160 E 6stündlich oder entsprechende Menge Öl-Wachs-
(Gewicht 50 — maxim. 100 g)		Penicillin zweimal täglich.
	Streptomycin:	5 mg Öl-Wachs-Streptomycin täglich.
	Aureomycin:	1 mg 8stündlich.
<i>Hunde:</i>	Streptomycin:	700 mg am 1. Tag und 500 mg an den folgenden Tagen.
(Körpergewicht 8,5 kg)		
	Aureomycin:	40 mg je 1 kg Körpergewicht 8stündlich.

Chronische Dauerausscheider (Goldhamster und Hunde) werden sicher leptospirenfrei durch 5tägige Behandlung mit 40 mg Aureomycin je 1 kg Körpergewicht in 24 Std 8stündlich peroral verabreicht.

50 mg Streptomycin je 1 kg Körpergewicht in 12 Std, als Öl-Wachs-Emulgierung intramuskulär injiziert.

(Aureomycin und Streptomycin wurden von den Experimentatoren selbst in Öl-Wachs emulgiert und in dieser Form injiziert).

Die Behebung der Leptospirurie durch Antibiotica ist unter Umständen außerordentlich wichtig, sowohl aus epidemiologischen Erwägungen wie auch zur Behebung interstitieller Nephritiden und Verhütung von Schrumpfnieren bei aus irgendwelchen Gründen wertvollen Tieren.

VIII. Wasserleptospiren.

A. Allgemeines.

Die Wasserleptospiren sind saprophytäre, wie es ihr Name ausdrückt, in natürlichen Gewässern vorkommende Leptospiren. Soweit bekannt ist, sind sie am Zustandekommen menschlicher und tierischer Erkrankungen nicht beteiligt und sollen an dieser Stelle nur der Vollständigkeit halber Erwähnung finden.

Wasserleptospiren wurden schon 1914, also vor dem Bekanntsein der *L. icterohaemorrhagiae*, von WOLBACH und BINGER in Sumpfwasser, das aus der Nähe von Boston stammte, entdeckt und von diesen Autoren *Spirochaeta biflexa* (heute *L. biflexa*) benannt.

Wie dann 1 Jahr später die ätiologische Bedeutung der *L. icterohaemorrhagiae* geklärt wurde, war es naheliegend, zwischen dieser bzw. der WEILschen Krankheit und den Wasserleptospiren Zusammenhänge zu suchen. Während der folgenden 20 Jahre dominierte denn auch in weiten Kreisen die Ansicht, die artspezifischen Eigenschaften seien bei den Leptospiren inkonstant und die Leptospiren würden ihre biologischen Eigenschaften — auch die antigenen — je nach Anpassung an ein bestimmtes Wirtstier ändern. So wurde unter anderem angenommen, weil durch einzelne Versuche scheinbar bestätigt (s. Kapitel III/B), die Wasserleptospiren könnten sich durch wiederholte geeignete Tierpassagen in pathogene WEIL-Leptospiren umwandeln. Heute sind sich die meisten Autoren darüber einig, daß die Artspezifität eines Leptospirenstammes auch unter ändernden Umweltseinflüssen konstant bleibt.

Schon 1920 haben UHLENHUTH und ZUELZER betont, daß sich die Wasserleptospiren morphologisch von WEIL-Leptospiren nicht unterscheiden lassen, daß sie aber weniger anspruchsvoll und gegenüber oligodynamischen Einflüssen bedeutend widerstandsfähiger seien. Es wurde damals schon festgestellt, daß die Wasserleptospiren serologisch mit den WEIL-Leptospiren in keiner Weise verwandt seien, daß aber die verschiedenen Wasserleptospirenstämme auch unter sich antigenetisch sich ganz verschieden verhalten würden.

B. Morphologie.

Die Wasserleptospiren lassen sich äußerlich kaum von pathogenen Leptospiren unterscheiden. Erstere scheinen im allgemeinen etwas länger und auch etwas dicker zu sein und weisen eher größere Variationsbreiten auf als die pathogenen Formen.

C. Biologische Eigenschaften.

Die Eigenbewegung der Wasserleptospiren ist noch intensiver und weitergreifend als diejenige der pathogenen Leptospiren.

Obwohl man die Wasserleptospiren vielfach aus reinem, einwandfreiem Trinkwasser isolieren konnte, vegetieren sie mit Vorliebe in stagnierenden Gewässern, in welchen eine spezielle Mikroflora und Mikrofauna vorkommt (ZUELZER). Saures Milieu ertragen auch die Wasserleptospiren nicht, sondern benötigen eine leicht alkalisch bis neutral reagierende Umgebung.

Die Wasserleptospiren vermögen sich auffallend gut den Umwelttemperaturen anzupassen. ZUELZER fand sie in Thermalquellen von 45° C Wassertemperatur

und BABUDIERI hat gezeigt, daß sie eine Abkühlung auf -190°C (flüssige Luft) überleben.

Das Wachstumsoptimum liegt für Wasserleptospiren (wie bei den pathogenen) um $27-28^{\circ}\text{C}$.

D. Kultivierung.

Um Reinkulturen von Wasserleptospiren zu erhalten, geht man nach BABUDIERI am besten wie folgt vor:

Man bringt einige Kubikzentimeter des leptospirenhaltigen bzw. zu untersuchenden Wassers auf ZUELZER-Nährmedium, welches in PETRI-Schalen gegossen ist und bebrütet bei $22-28^{\circ}\text{C}$. Sobald sich in der Kultur reichlich Leptospiren entwickelt haben, spült man die Nährbodenoberfläche mit sterilem Leitungswasser ab und filtriert dieses zwecks Trennung von Begleitkeimen durch Tonfilter (Chamberland L_5) oder — nach BABUDIERI — durch Seitz-EntkeimungsfILTER. (Die Wasserleptospiren vermochten unsere Seitz-EntkeimungsfILTER nicht zu durchwandern, was auf einer Verschiedenheit der Filtrierschichten beruhen mag.) Zum Filtrat, welches Leptospiren, jedoch keine Begleitkeime mehr, enthalten soll, gibt man $\frac{1}{10}$ Volumen steriles Kaninchenserum, füllt das Gemisch in verschiedene Reagensgläser ab und bebrütet bei $27-28^{\circ}\text{C}$. Auf diese Weise erzeugt man in der Regel reichliches Leptospirenwachstum.

Der ZUELZER-Nährboden wird folgendermaßen hergestellt:

225 cm ³ Wasser	} werden gemischt, bei 120°C sterilisiert und auf 40°C abgekühlt. Dann wird 1 cm ³ Eigelb zugesetzt und das Ganze in PETRI-Schalen gegossen.
1—2 g Agar	
75 cm ³ SÖRENSENsche Pufferlösung, pH 7,5, hergestellt mit Aqua bidest.	
3 cm ³ Brillantgrünlösung 1:1000	

Beimpfen dieses Nährbodens wie oben beschrieben.

E. Antigene.

*Es ist namentlich das Verdienst BABUDIERIS, die antigenen Verhältnisse innerhalb der Gruppe der Wasserleptospiren eingehend analysiert und diese auch mit den pathogenen Leptospiren verglichen zu haben. Diese systematischen Untersuchungen von 34 Stämmen zeigen, daß die Wasserleptospiren ebenfalls antigene Eigenschaften aufweisen, daß diese Antigene sehr verschiedenartig, aber konstant sind, jedoch keinerlei Beziehungen zu den pathogenen Leptospiren besitzen. Einzelne der geprüften Wasserleptospirenstämme scheinen unter sich nahe verwandt zu sein, andere reagieren vollkommen unabhängig voneinander. BABUDIERI hat vorläufig die von ihm geprüften Wasserleptospiren in 4 Gruppen, I—IV, eingeteilt.

In Rom wurden ebenfalls durch BABUDIERI 350 menschliche Sera der einheimischen Bevölkerung auf Agglutinine gegenüber den aus römischen Trinkwassern kultivierten Wasserleptospiren untersucht. In keinem dieser menschlichen Seren konnten entsprechende Antikörper festgestellt werden. Ebenso verliefen Kontrolluntersuchungen mit Seren unbehandelter Laboratoriumstiere ergebnislos, d. h. ließen keine Antikörperbildung gegenüber Wasserleptospiren erkennen.

Zweiter, untersuchungstechnischer Teil.

In diesem untersuchungstechnischen Teil soll in erster Linie die nackte Untersuchungstechnik zusammengefaßt werden. Nachdem aber da und dort kleine Erklärungen allgemein-biologischer Natur angebracht werden müssen und vor allem auch auf Fehlerquellen aufmerksam zu machen ist, kommt man nicht restlos darum herum, einige im ersten Teil ausführlich besprochene Probleme, wenn auch abgekürzt, nochmals anzudeuten.

I. Leptospirennachweis.

A. Mikroskopischer Nachweis der Leptospiren.

1. Darstellungsmethoden.

Eine Sichtbarmachung der Leptospiren im Hellfeld ist in befriedigender Weise bis jetzt nicht gelungen, es sei denn in fixiertem und gefärbtem Zustande. Auch das Phasenkontrastverfahren eignet sich zum Arbeiten mit Leptospiren nicht, weil diese so dünn sind, daß sie durch den Phasenkontrast der heutigen Konstruktionen zu wenig deutlich zur Darstellung gelangen.

Die Leptospiren lassen sich durch folgende Verfahren sichtbar machen (gut gereinigte Objektträger verwenden!):

a) *Dunkelfelddarstellung.* Eignet sich vor allem zur Erfassung von Leptospiren in lebendem und beweglichem Zustand. Dieselben sind schon bei einer Vergrößerung von 1:200 gut sichtbar. Charakteristisch für alle Leptospiren ist ihre rotierende Eigenbewegung.

Muß man in Untersuchungsmaterial Leptospiren suchen, verwendet man vorteilhaft keine zu starke Vergrößerung, weil man mit kleineren Vergrößerungen ein weiteres Gesichtsfeld zu überblicken vermag.

Zum Sichtbarmachen fixierter Leptospiren dienen nachfolgende Verfahren:

b) *Tuscheverfahren.* (Analogon zu *Dunkelfeld*.) Zu einem Tropfen leptospirenhaltigem Medium einen Tropfen frische Tusche zusetzen und sofort mit Deckgläschen austreichen (wie Blutaussstriche).

c) *Kombinierte MAY-GRÜNWARD-Färbung nach PAPPENHEIM.* Präparate lufttrocknen (nicht hitzefixieren) oder dieselben 2—3 sec den Dämpfen von Osmiumsäure aussetzen. 3 min färben mit unverdünnter MAY-GRÜNWARD-Lösung. Dann gleiche Menge Aqua dest. zugeben und weiter 1—2 min einwirken lassen. MAY-GRÜNWARD-Lösung weggießen und die Präparate, ohne sie abzuspülen, 24 Std in GIEMSA-ROMANOWSKY-Lösung einlegen. Diese wird in der Verdünnung 1 Tropfen Farbstoff auf 1 cm³ Aqua dest. verwendet. Aqua dest. wenn notwendig alkalisieren mit einigen Tropfen NaHCO₃. Nach beendigter Färbung Präparat mit Leitungswasser gut abspülen.

d) *Färbung nach FONTANA (Silberimprägnierungsmethode).* Folgende 3 Lösungen sind erforderlich:

Lösung I:	Formaldehyd	20,0
	Acidum aceticum	1,0
	Aqua dest.	100,0
Lösung II:	Acidum tannicum	5,0
	Phenol	1,0
	Aqua dest.	100,0

Lösung III: Zu einer 1½%igen Lösung von Argentum nitricum in Aqua dest. fügt man vorsichtig so lange eine 10%ige Ammoniaklösung hinzu, bis der anfänglich entstehende Niederschlag sich wieder löst. Hernach wird erneut von obiger Argentum nitricum-Lösung zugesetzt, bis der Niederschlag eben wiederkehrt und bleibt.

Färbung: Das luftgetrocknete Präparat wird 3mal je 30 sec mit Lösung I behandelt und hernach mit absolutem Alkohol abgespült, indem man diesen 3 min einwirken läßt. Nach Abgießen oder Abflammen des Alkohols wird das Präparat während 30 sec mit Lösung II versetzt und diese erwärmt, bis sichtbare Dämpfe entstehen. Darauf wird gründlich abgespült, erst mit Leitungswasser, dann mit Aqua dest. und schließlich Lösung III zugesetzt, indem man auch diese während 1 min bis zur Dampfbildung erwärmt und mit Aqua dest. nachspült.

Die Silberimprägnierungsmethode, modifiziert nach LEVADITI, eignet sich vor allem auch für die Färbung histologischer Präparate.

e) *Färbung nach PULCHER.* Folgende Farblösung ist herzustellen: 0,45 g Krystallviolett wird in 100,0 Aqua dest. gelöst. 0,90 g Acidum tannicum wird ebenfalls in 100,0 Aqua dest. gelöst. Beide Lösungen werden zusammengegossen und 100,0 Salzsäure 3% zugesetzt. Mit dem so erhaltenen Farblack wird wie folgt gefärbt:

Der Lack wird zu gleichen Teilen mit Aqua dest. verdünnt, in einem Glasgefäß bis fast zum Sieden erhitzt, in diesem Zustand auf die luftgetrockneten Präparate gegossen und 2—3 min daselbst belassen. Abspülen mit Leitungswasser.

Die Färbemethode nach PULCHER ist äußerst einfach durchführbar und liefert ausnehmend gute Resultate.

f) *Färbung nach VAGO.* Die luftgetrockneten Präparate werden während 10 min mit einer 1%igen Lösung von Acidum aceticum übergossen. Nach Abspülen wird Lösung II der FONTANA-Methode zugesetzt, bis zur Dampfbildung erwärmt und 5 min belassen. Nach erneutem Abspülen wird eine konzentrierte Lösung von Pyocetanin oder Methylviolett in Aqua dest. zugesetzt und bei 5 min Einwirkungszeit ebenfalls bis zur Dampfbildung erwärmt. Wiederum Abspülen. Hernach eine konzentrierte wäßrige Lösung von Mercurochrom der Fa. Dunning in Baltimore (Di-Natriumsalz des Di-Brom-Oxy-Mercur-Fluoreszin) 2 min einwirken lassen und abspülen. Zum Schluß 1—2 min Lugol zusetzen.

g) *Färbung nach VRŠANSKY.* Präparate lufttrocknen. Diese hierauf mit Lösung II der FONTANA-Methode versetzen und während 2 min auf 60° erwärmen. Abspülen. Nachfärben mit 0,5 g Fuchsin basicum, gelöst in 60 cm³ Methylalkohol, dem 20 cm³ Ammonium oxalicum 1% zugegeben ist. Diese Farblösung wird am besten in ein Standgefäß gegossen und die Präparate während 30 min darin eingetaucht. Abschließend gründlich abspülen.

h) *Darstellung im Elektronenmikroskop.* Als Ausgangsmaterial muß man womöglich proteinfreie Nährmedien verwenden, z. B. KORTHOFF-Nährflüssigkeit ohne Serumzusatz. Diese Flüssigkeit bringt man auf die Trägerfolien und läßt sie eintrocknen. Darauf werden die beim Eintrocknen auskristallisierten Salze mit doppelt destilliertem Wasser ausgewaschen und die wieder getrockneten Folien sind gebrauchsbereit oder können in diesem Zustande ohne weiteres auch längere Zeit aufbewahrt werden.

Eine plastischere Darstellung der Leptospiren erreicht man dadurch, daß man dieselben vorerst fixiert, z. B. mit 0,5% Formaldehyd. BABUDIERI schlägt vor, dem leptospirenhaltigen Milieu je 1 cm³ Nährflüssigkeit 1—2 Tropfen einer 1%igen Osmiumsäurelösung zuzusetzen. Hierauf werden die Leptospiren bei mindestens 3000 Umdrehungen je Minute mehrmals auszentrifugiert und jeweils in doppelt destilliertem Wasser wieder aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmung kann man auf die Trägerfolien bringen und eintrocknen lassen, ohne daß noch weitere Prozeduren vonnöten sind.

Um die Leptospiren besonders plastisch darzustellen, kann man die Trägerfolien im Hochvakuum mit einem Schwermetall (Gold), das verdampft wird, beschatten. Dabei muß ein bestimmter Einfallswinkel innegehalten werden. Durch den entstehenden Metallüberzug wird allerdings die Feinstruktur der Leptospiren unsichtbar gemacht, als Ganzes gelangen sie aber räumlicher zur Darstellung. Die Metallbeschattung bei ganz bestimmtem Einfallswinkel wird auch benützt zur Vornahme genauer Größenbestimmungen.

2. Untersuchungsmaterial.

a) *Urin, Nierengewebe.* Im Urin, bzw. Urinsediment, sowie in Nieren-
ausstrichen können Leptospiren mikroskopisch nachgewiesen werden. Am geeignetsten ist das Dunkelfeldverfahren.

b) *Andere Organe, Leber.* In anderen Organausstrichen, z. B. in der Leber, kann man bei Infektionen mit den Leptospirenarten, welche Leberbeteiligung aufweisen, ebenfalls Leptospiren direkt nachweisen.

c) *Blut.* Im Blut gelingt der direkte Leptospirennachweis auch im septic-
ämischen Stadium in der Regel nicht. Eine Ausnahme bilden die Goldhamster, bei denen man nach Infektionen mit *L. canicola* und *L. icterohaemorrhagiae* die Leptospiren in großer Zahl in nativen Blutpräparaten und auch in Blut-
ausstrichen feststellen kann.

Zum direkten Leptospirennachweis im menschlichen Blut wurden unter anderem folgende *Zentrifugiermethoden* beschrieben:

aa) Zentrifugiermethode nach RUTS: 4 cm³ zu untersuchendes Blut werden mit 1 cm³ einer 1%igen gepufferten Natrium-Oxalat-Lösung von p_H 8,1 gemischt. Das Oxalatblut wird während 15 min bei 1500 Umdrehungen je Minute zentrifugiert. Das Plasma wird im Dunkelfeldmikroskop untersucht.

Wenn keine Leptospiren gefunden werden, wird das Plasma mit einer gleichen Menge Phosphatpufferlösung von p_H 5,3 gemischt und während 1/2 Std bei mindestens 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Das so erhaltene Sediment wird mit einem der bekannten Färbeverfahren auf Leptospiren untersucht.

bb) Zentrifugiermethode nach ALTANA: 2—5 cm³ Patientenblut, welches im Verhältnis 4:1 mit 5%iger Na-Citratlösung vermischt worden ist, wird während 5—10 min bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Durch das Zentrifugieren scheidet sich das Blut in 3 Schichten: zu unterst sind die Erythrocyten, dann folgt eine weißliche Mittelschicht, welche vor allem aus Leukocyten und Thrombocyten besteht, und zu oberst ist das Plasma.

Wenn Leptospiren im Blut vorhanden sind, sollen sie sich in der weißlichen Mittelschicht befinden. Von dieser werden mit einer PASTEUR-Pipette Proben entnommen und zwischen Objektträger und Deckglas beobachtet.

ZECHINI, dessen Publikation wir die Kenntnis obiger Methode verdanken, will mit derselben nie positive Resultate gesehen haben. ALTANA selbst aber sagt in einer Diskussionsbemerkung, daß «con questo metodo sono già stati diagnosticati numerosissimi casi di leptospirosi in provincia di Reggio Emilia».

Es ist möglich, mit Hilfe dieser Zentrifugiermethode Leptospiren nachzuweisen. Immerhin dürften einwandfreie Befunde nur selten erzielt werden.

Fehlerquellen. Bei direkter mikroskopischer Untersuchung von Blut ist auf eine wesentliche Fehlerquelle aufmerksam zu machen: man findet in Blutausstrichen immer wieder sog. Pseudospirochäten, die auch vom Kenner sehr oft von echten Leptospiren nicht zu unterscheiden sind. Diese Pseudospirochäten sind Kunstprodukte protoplasmatischer Natur und stammen von Blutplättchen oder von Erythrocytenstroma ab.

Wir selbst erhielten verschiedentlich Blutproben zugeschiekt, in welchen andere Untersucher (im allgemeinen keine Fachleute) Leptospiren gesehen haben wollten. Es gelang uns jeweils weder mit kulturellen noch mit Tierversuchsmethoden, wirkliche Leptospiren zur Darstellung zu bringen.

B. Kultureller Leptospirennachweis.

1. Nährmedien.

a) *Nährmedium nach KORTHOFF.* Dieses ist das heute wohl gebräuchlichste und auch am universellsten verwendbare Nährsubstrat. Uns selbst ist mit Hilfe desselben die Kultivierung und Erhaltung aller zur Verfügung stehenden Leptospirenstämme ausnahmslos gelungen.

Dasselbe wird wie folgt hergestellt:

Pepton Witte	1,6	} werden in Aqua dest. 2000,0 gelöst; pH 7,2—7,3
NaCl	2,8	
NaHCO ₃	0,04	
KCl	0,08	
CaCl ₂	0,08	
KH ₂ PO ₄	0,36	
Na ₂ HPO ₄	1,92	

Diese Lösung wird an 3 aufeinanderfolgenden Tagen bei 110° C sterilisiert und jeweils nach Erkalten durch ein Papierfilter filtriert. Nach Abfüllen in Reagensgläser (am besten in Mengen von 5 oder 10 cm³) wird das Nährmedium nochmals an 3 aufeinanderfolgenden Tagen während je 30 min auf 100° C erhitzt. Hierauf wird unter sterilen Kautelen $\frac{1}{10}$ Volumen steriles Kaninchenserum zugesetzt, welches an 3 aufeinanderfolgenden Tagen während je 30 min bei 56° C inaktiviert worden ist. Das verwendete Kaninchenserum muß ganz gesunden, gut genährten und nicht vorbehandelten Tieren entstammen.

Alle Versuche, dieses Kaninchenserum durch ein anderes, leichter erhältliches Serum zu ersetzen, haben bis jetzt fehlgeschlagen. Das Kaninchenserum soll womöglich unter sterilen Bedingungen gewonnen werden, damit es nicht notwendig ist, dasselbe keimfrei zu filtrieren. Wir haben immer wieder beobachtet, daß die Leptospiren im Nährmedium mit nichtfiltriertem Serum besser wachsen, als wenn filtriertes Serum verwendet worden ist.

Trotz peinlicher Innehaltung aller Nährbodenvorschriften erlebt man immer wieder, daß einzelne Stämme (es sind namentlich Sejroe- und Mitisstämme) sich

nicht wünschgemäß entwickeln. Es wurde deshalb unter anderem vorgeschlagen, dem Nährmedium Hämoglobinlösung oder Hefeextrakt zuzusetzen.

Die *Hämoglobinlösung* wird wie folgt hergestellt:

5 cm³ Kaninchen-Erythrocytensediment wird mit 20 cm³ destilliertem Wasser versetzt und die Mischung nach erfolgter Hämolyse steril filtriert.

Zu 5 cm³ Nährsubstrat werden 1 Tropfen Hämoglobinlösung zugegeben.

Die *Hefeextraktlösung* wird wie folgt hergestellt:

1,0 fester Hefeextrakt „Difco“ wird unter Aufkochen in 10,0 Wasser gelöst. Zu 1000,0 Nährlösung werden 10,0 obigen gelösten 10%igen Hefeextraktes zugefügt, so daß die Endverdünnung des Hefeextraktes 1‰ beträgt. Der Hefeextrakt kann hitzesterilisiert werden.

Nach unseren Feststellungen hat weder die Hämoglobin- noch die Hefeextraktbeigabe eine wesentliche Verbesserung des Nährbodens ergeben.

Bei systematischer Beobachtung machten wir immer wieder die Feststellung, daß die Qualität des Nährmilieus in bezug auf Leptospirenwachstum in erster Linie vom Kaninchenserum abhängt. Wir sahen, daß einzelne Leptospirenarten im Nährboden, dessen Serum von einem bestimmten Kaninchen stammte, ausgezeichnet sich vermehrten, während andere Leptospirenarten in diesem Nährmedium kümmernten, dafür aber in einem solchen, hergestellt mit dem Serum eines anderen Kaninchens, tadellos sich vermehrten.

Wir sind nun dazu übergegangen, uns eine Reihe großer Kaninchen zu halten, die nur zur Serumgewinnung für Leptospirennährböden verwendet werden. Solange es technisch gut möglich ist, gewinnen wir das Blut durch Herzpunktion. Erst nach wiederholten Herzpunktionen werden die Tiere vollständig entblutet. Wir stellen stets verschiedene Nährbodenserien mit entsprechend verschiedenen Kaninchenseren her und müssen dann einzig darauf achten, für die einzelnen Leptospirenarten die richtigen Seren auszuwählen.

Beabsichtigt man, Leptospirenuntersuchungen morphologischer Art durchzuführen, empfiehlt es sich, dieselben in der KORTHOFF-Lösung ohne Serumzusatz zu kultivieren. Dies gelingt in der Regel ohne weiteres, sofern man keine längere Passagenreihe anstellen will. Das Nährmedium ohne Serumzusatz gibt namentlich elektronenoptisch, aber auch bei Anwendung der Färbemethoden, viel klarere Bilder.

Weitere, für die Kultivierung von Leptospiren in Frage kommende Nährmedien sind:

b) Nährmedium nach REITER-RAMME.

Brunnenwasser	1000,0	} in Autoklav sterilisiert und filtriert, p _H 7,2
KH ₂ PO ₄	0,27	
Na ₂ HPO ₄ + 2 H ₂ O	2,018	
Kaninchenserum steril.	100,0	

Das Gemisch wird an 3 aufeinanderfolgenden Tagen bei 57° C während je 1 Std inaktiviert.

c) Peptonnährmedium nach VERVOORT und WOLFF (auch als „VERVOORTSche Variation des SCHÜFFNER-Medium“ bekannt).

Brunnenwasser	1500,0	} aufkochen und zufügen:
Pepton	1,5	
Ringerlösung	300,0	

SÖRENSENSEsche Pufferlösung p_H 7,2. 150,0 aufkochen, bis die Phosphate ausfallen, abkühlen lassen, filtrieren und nochmals p_i kontrollieren bzw. wieder auf 7,2 einstellen.

d) NOGUCHI's halbfester Nährboden.

Physiologische Kochsalzlösung (0,9%). 800,0
2% Agar (p_H 7,2) 100,0

Das Gemisch in Mengen von 2 cm³ in Reagensgläser abfüllen. Jedem Reagensglas 1 Tropfen Kaninchenhämoglobin und 0,25 cm³ inaktiviertes Kaninchenserum zufügen. (Das Hämoglobin besteht aus 1 Teil defibrinierten Kaninchenblutes und 3 Teilen destillierten Wassers.)

e) FLETSCHER's Nährboden für Blutkulturen. Zu 5 cm sterilem Brunnenwasser 0,5 cm³ 2,5%igen Agar und 0,5—1 cm³ Kaninchenserum zufügen.

Dazu 0,5 cm³ zu untersuchendes Blut beifügen.

f) ZUELZER's Eiernährboden (hauptsächlich geeignet zur Kultivierung von Wasserleptospiren)

Brunnenwasser 225,0
Agar 1—2,0
SÖRENSENSEsche Pufferlösung, p_H 7,5 75,0
Brillantgrün-Lösung 1:1000 3,0

Dieses Gemisch wird bei 120° C sterilisiert und auf 40° C abgekühlt. Dann wird zugegeben:

Eigelb 1,0

Das Ganze wird gemischt und am besten in PETRI-Schalen gegossen.

2. Kultivieren der Leptospiren.

a) *Leptospirenreinkulturen*. Will man bestimmte Leptospirenstämme am Leben erhalten, kann man sie nicht beliebig lange in derselben Kulturflüssigkeit vegetieren lassen. Man muß die Stämme alle 8—14 Tage in frische Nährlösungen überimpfen. Man überimpft von der alten Kultur $\frac{1}{10}$ Volumen der Menge der frischen Nährlösung, also in 5 cm³ neues Nährsubstrat 0,5 cm³ der alten Kultur. Starre Regeln können bezüglich des Zeitpunktes des Überimpfens nicht aufgestellt werden. Einerseits verhalten sich nicht alle Leptospirenarten gleich und andererseits sind auch die einzelnen Stämme an sich Schwankungen unterworfen. Es bleibt somit nichts anderes übrig, als die Stämme systematisch zu beobachten. Bei Vorhandensein einer größeren Sammlung beansprucht das Kontrollieren und Überimpfen der Stämme wöchentlich einen Arbeitstag.

Die frisch beimpften Nährmedien werden 5—8 Tage bei 27—28° C bebrütet, genau kontrolliert und ausgewachsene Kulturen nachher bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt.

Es hat sich gezeigt, daß sich die Leptospiren auf halbfesten Nährböden, wie sie von NOGUCHI beschrieben wurden, länger halten als in flüssigen, daß man also mit dem Überimpfen auf frische Medien länger warten kann. Unsere eigenen Erfahrungen gehen dahin:

Wir haben unseren KORTHOFF-Nährmedien, die zu 5 cm³ in normalen Reagensgläsern von 18 mm Durchmesser abgefüllt waren, $\frac{1}{10}$ Volumen 2%igen Agar zugesetzt. Das flüssige, Kaninchenserum enthaltende Nährsubstrat wurde auf 56° C erwärmt und der bei Siedetemperatur verflüssigte Agar auf 56° C abgekühlt und in diesem Zustande mit dem KORTHOFF-Milieu vermischt.

Diese halbfesten Nährböden wurden beimpft. Die Leptospiren vermehrten sich ungefähr gleich gut, wie in den flüssigen Medien und hielten sich zum Teil 8—12 Wochen, und zwar zahlreicher, als in flüssigen Vergleichskulturen. Es gab aber auch Kulturen in halbfesten Medien, in denen die Zahl der lebenden Leptospiren schon nach wenigen Wochen rapid abnahm.

Unseres Erachtens sind halbfeste Nährmedien zur Erhaltung von Leptospirenstämmen sehr wohl brauchbar. Man muß aber auch diese Kulturen wöchentlich kontrollieren, sonst erlebt man plötzlich, daß ein Leptospirenstamm nicht mehr vorhanden ist.

b) *Durch Begleitkeime verunreinigte Leptospirenkulturen.* Sind Leptospirenkulturen durch Begleitkeime verunreinigt, ist es nicht einfach, Reinkulturen der Leptospiren zu erhalten. Man kann auf 2 Arten zum Ziele kommen:

aa) Durch Filtrieren der Mischkulturen durch Tonfilter, eventuell auch durch Seitz-Entkeimungsschichten. Bei der Wahl der Porengröße der Tonfilter kann man sich an die Größe der wegzufiltrierenden Begleitkeime halten. Die Leptospiren passierten unsere CHAMBERLAND-Tonfilter bis zur Porengröße L_5 , dagegen nicht mehr L_7 . Die bei uns gebräuchlichen Seitz-Filtrierschichten wurden von den Leptospiren nie durchwandert, andere Autoren haben das Gegenteil beobachtet.

Gelingt es, durch Filtration die Begleitkeime zurückzuhalten, legt man mit dem leptospirenhaltigen Filtrat sofort frische Kulturen an.

bb) Durch Benützung lebender Versuchstiere als Bakterienfilter. Dazu verwendet man am besten Meerschweinchen oder Kaninchen. Den Tieren injiziert man einige Kubikzentimeter der verunreinigten Leptospirenkultur intraperitoneal. Nach 15—60 min gewinnt man durch Herzpunktion bakterienfreies Blut, das aber Leptospiren enthält und legt mit diesem Blut frische Kulturen an. Diese Methode führt in der Regel ohne besondere Schwierigkeiten zum Ziele.

3. Untersuchungsmaterialien.

Als Untersuchungsmaterial für kulturellen Leptospirennachweis eignen sich in erster Linie:

a) Im septicämischen Stadium:

aa) Blut,

bb) Liquor (weniger geeignet als Blut, weil Leptospiren in geringerer Zahl und nur fakultativ vorhanden),

cc) Organaufschwemmungen, namentlich bei Verarbeitung toter Wirtskörper.

b) Im Ausscheidungsstadium:

Nierengewebe oder Urin.

Wir haben stets etwa $\frac{1}{10}$ Volumen Untersuchungsmaterial mit $\frac{9}{10}$ Volumen Nährlösung vermischt und unter aeroben Bedingungen bei 27°C gebrütet. Wenn ganze Organstücke der Nährflüssigkeit beigegeben werden, empfiehlt es sich, dieselben nach 24 Std aus der Nährlösung wieder zu entfernen, um auf diese Weise das Entstehen anaerober Wachstumsbedingungen zu verhüten.

Das Untersuchungsmaterial wird, soweit dies möglich ist, vorteilhaft am Krankenbett direkt überimpft. Im übrigen kann das Untersuchungsmaterial aber ohne weiteres auch per Post verschickt werden, ohne daß dadurch das

Endergebnis wesentlich beeinflußt wird. Wir machten die Erfahrung, daß man um so schneller Leptospirenwachstum nachweisen kann, je rascher das Untersuchungsmaterial vom Wirtsorganismus in den künstlichen Nährboden gelangt. Daß Leptospiren Abkühlungen bis gegen 0° C besser ertragen als früher angenommen wurde, haben wir im Kapitel II des ersten Teiles erwähnt. Dementsprechend ist es uns auch gelungen, aus Blutproben, die während mehrerer Tage bei +2° C im Kühlschrank gestanden hatten, Leptospiren zu kultivieren; verglichen mit am Krankenbett erfolgten direkten Übertragungen konnten wir Leptospiren aber erst 14 Tage später nachweisen.

Mit Untersuchungsmaterial angelegte Kulturen beobachtet man vom 8. Bebrütungstage an alle 2 Tage im Dunkelfeld. Bei Angehen einer Kultur lassen sich die Leptospiren meistens nach 10—14 Tagen nachweisen, gelegentlich aber auch erst nach dem 20. Bebrütungstag. Wir beobachten demzufolge noch nicht angegangene diagnostische Kulturen während eines Monats. Sobald sich nun im Nährmedium einzelne — auch nur fragliche — Leptospiren feststellen lassen, werden diese auf ein frisches Nährsubstrat überimpft; wieder $\frac{1}{10}$ Volumen alte Nährlösung in $\frac{9}{10}$ Volumen neue. Dieses rechtzeitige Überimpfen in frische Nährlösung ist für das Zustandekommen positiver Untersuchungsergebnisse von maßgebender Bedeutung.

C. Nachweis der Leptospiren im Tierversuch.

Wir kennen nur 2 Arten von Versuchstieren, für welche wiederum nur 2 Leptospirenarten obligat pathogene Wirkung haben. Es sind dies:

Versuchstiere:	Leptospirenarten:
Meerschweinchen	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>
Goldhamster	<i>L. canicola</i>

Das Meerschweinchen geht bei Infektion mit *L. icterohaemorrhagiae* in der Regel zugrunde, der Goldhamster sowohl nach Infektion mit *L. icterohaemorrhagiae* wie auch mit *L. canicola*.

Will man in einem Untersuchungsmaterial Leptospiren nachweisen, injiziert man den in Frage kommenden Versuchstieren das Material bzw. eine Aufschwemmung davon am besten intraperitoneal.

Die *L. icterohaemorrhagiae* verursacht beim Meerschweinchen einen hochgradigen Ikterus. Die Versuchstiere gehen meistens zugrunde. Die Leptospiren lassen sich namentlich in Leber und Nieren in großer Zahl nachweisen. Von diesen Organen aus kann auch eine weitere kulturelle Verarbeitung erfolgen.

Beim Goldhamster ist in der Regel kein Ikterus festzustellen. Diagnostisch verwertbar ist sowohl nach Infektionen mit *L. canicola* wie *icterohaemorrhagiae* die nach dem 3. Tage post infectionem auftretende Septicämie. Die Leptospiren sind in diesem Stadium in direkten Blutaussstrichen in relativ großer Zahl nachweisbar. Auch der Goldhamster geht an den genannten Leptospireninfektionen normalerweise zugrunde.

Die Tierversuche haben gegenüber der kulturellen Methode den Vorteil, daß gegebenenfalls auch mischinfiziertes Material direkt verimpft werden kann und daß solche Untersuchungen auch dort durchgeführt werden können, wo eine differenziertere Leptospirenuntersuchungstechnik noch nicht zu Hause ist. Bezogen auf das Gesamtgebiet der Leptospirosen haftet diesen Tierversuchen der

große Nachteil an, daß sie nur für 2 Leptospirenarten (*Canicola* und *Ictero-haemorrhagiae*) Verwendung finden können.

Die übrigen Leptospirenarten sind für Meerschweinchen und weiße Mäuse wenigstens teilweise pathogen und rufen bei denselben Temperaturerhöhungen und Antikörperbildung hervor. So besteht die Möglichkeit, Untersuchungsmaterial z. B. auf Meerschweinchen zu überimpfen, bei diesen regelmäßige rectale Temperaturkontrollen vorzunehmen und bei Auftreten von Fieber durch Herzpunktion gewonnenes steriles Meerschweinchenblut kulturell weiter zu verarbeiten. Ebenfalls kann bei den genannten Versuchstieren die Leptospirenausscheidung im Urin bzw. im Nierengewebe kontrolliert werden, wie dies jüngstens von OLEJNIK und SHNEYERSON für die in Israel festgestellte neue Leptospirenart beschrieben worden ist (Versuchstier Albinomaus).

Folgendes Beispiel möge das Vorgehen beim Fahren nach Leptospiren, die für das Versuchstier nicht vollpathogen sind, d. h. bei demselben nicht zu einer tödlichen Erkrankung führen, demonstrieren:

Ein Patient wird mit septicämischem Krankheitsbild in die Klinik eingeliefert. Klinische Vermutungsdiagnose: Leptospirose. Wegen Feiertagsverhältnisse ist es nicht möglich, sofort Kulturen auf Leptospiren anzulegen. Das Patientenblut wird deshalb 2 Meerschweinchen intraperitoneal injiziert (je 2 cm³). Die 2 Meerschweinchen zeigen folgende Temperaturkurve:

Wie die Temperatur zeigt, ließ sich beim Versuchstier eine Fieberreaktion nachweisen. Zu Beginn der Fieberperiode wurde durch Herzpunktion unter sterilen Kautelen Blut gewonnen und dasselbe kulturell verarbeitet: Wachstum von *L. mitis*. Nach Abklingen der Fieberreaktion wurde das Tier getötet. In Nieren und Urin ließen sich reichlich Leptospiren nachweisen.

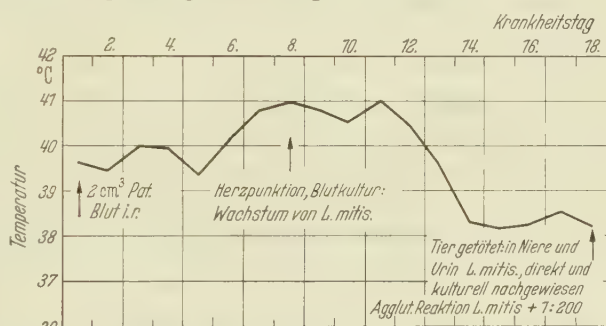


Abb. 16. Meerschweinchen-Tierversuch zum Nachweis teilpathogener Leptospiren.

In der Zwischenzeit erwies sich beim Patienten die Agglutinationsreaktion mit *L. mitis* positiv 1:1600. Die aus dem Blut und den Nieren des Versuchstiers kultivierten Leptospiren waren solche der Art *mitis*. Auch beim Meerschweinchen war in der Rekonvaleszenz die Agglutinationsreaktion positiv.

Der direkte Leptospirennachweis in Urin und Nieren zeigte, wie auch ohne Zuhilfenahme der Kulturmethode zum mindesten die Leptospiren als solche wahrnehmbar sind.

II. Antikörpernachweis.

Die Laboratoriumsdiagnostik der Leptospirosen basiert — wie dies auch bei einer Reihe anderer Infektionskrankheiten der Fall ist — auf dem Leptospirennachweis während des septicämischen bzw. Ausscheidungsstadiums und dem

Antikörpernachweis nach der septicämischen Phase. Obwohl ein Nachweis der Erreger selbst grundsätzlich immer wertvoller ist als der Nachweis der von ihnen hinterlassenen Spuren, spielt namentlich auf dem Gebiete der Leptospirosen die serologische Diagnostik, d. h. der Nachweis von Antikörpern praktisch eine weit größere Rolle als der Leptospirenachweis selbst. Dies nicht zuletzt deshalb, weil man auf dem Wege der Immunitätsreaktion rascher zum Ziele, d. h. zu einer Diagnose gelangt, als wenn man vorerst sich einen Leptospirenstamm in verschiedenen Kulturpassagen heranzüchtet und denselben anschließend noch identifizieren muß. Grundsätzlich können alle praktisch brauchbaren Antigen-Antikörperreaktionen auch bei der serologischen Leptospirosendiagnostik zur Anwendung gelangen. Wie auf dem Gebiete anderer Infektionskrankheiten haben sich aber auch hier nur einige wenige Methoden behaupten können. Dieselben seien, entsprechend ihrer praktischen Bedeutung, in der Folge besprochen.

A. Agglutinationsreaktionen.

1. Agglutinations-Lysis-Reaktion: Antigen: Lebende Leptospiren.

Diese Probe wird grundsätzlich wie jede andere im Reagensglas vorgenommene Agglutinationsprüfung ausgeführt, indem man Verdünnungen des zu untersuchenden Serums oder Liquors mit gleicher Menge ausgewachsener Leptospirenkulturen mischt und nach 2—4 sowie nach 24 Std kontrolliert.

Praktisch geht man wie folgt vor:

Man stellt mit sterilem Brunnenwasser eine Serumverdünnung von 1:50 her (0,1 cm³ Serum zu 4,9 cm³ Brunnenwasser). Liquor wird unverdünnt verwendet.

Für jeden zu berücksichtigenden Leptospirenstamm werden 0,1 cm³ der Serumverdünnung 1:50 in ein KAHN-Röhrchen gebracht und dieser Serumverdünnung je 0,1 cm³ Leptospirenkultur zugesetzt (in jedes Röhrchen eine zu prüfende Leptospirenart). Die schließliche Serumverdünnung beträgt somit 1:100.

Die nach 2 bzw. 24 Std vorgenommenen Kontrollen erfolgen im Dunkelfeld, indem man bei Verwendung einer mittleren Vergrößerung (nicht Ölimmersion) mit einer feinen Öse einen Tropfen des Serumkulturgemisches auf den gut gereinigten Objektträger bringt und ohne Deckglasverwendung beobachtet. Auf einem und demselben Objektträger können auf diese Weise eine ganze Anzahl Ablesungen vorgenommen werden.

Sind im Leptospirenserumgemisch, welches man bei Zimmertemperatur stehen läßt, auch nach 24 Std keine Veränderungen festzustellen, wird die Reaktion als negativ bewertet. Treten aber irgendwo Anzeichen von Agglutination oder Lysis auf, muß das Serum mit dem betreffenden Leptospirenstamm weiter ausstitriert werden, um den Endtiter sicherzustellen. Die genaue Feststellung dieses Endtiters ist, wie anschließend gezeigt werden wird, zur Stellung der richtigen Artdiagnose von maßgebender Bedeutung und bedeutet für den wenig geübten die Hauptschwierigkeit.

Beim Ablesen einer Agglutinations-Lysis-Reaktion berücksichtigt man in erster Linie:

- a) Die Anzahl noch lebender (beweglicher) Leptospiren im Vergleich mit einer Kontrolle ohne Serum,
- b) die Zerfallskörper und
- c) die Agglutination (Netzwerkbildung).

Die einwandfreie Ablesung dieser Proben erfordert — wie schon betont — namentlich wegen der Erfassung der richtigen Titerhöhe viel Erfahrung. So ist es wichtig, daß namentlich vergleichende Untersuchungen — und dies sind alle später wissenschaftlich ausgewerteten Untersuchungen — wenn möglich von der gleichen Person beurteilt werden. Wo sich mehrere Untersucher in die Arbeit teilen, entstehen fast immer Ablesungsdifferenzen von 1—2 Titerstufen.

Bei diesen Agglutinations-Lysis-Proben sind die Erscheinungen der Lysis stark vorherrschend und sehr oft ist nur Lysis festzustellen. Demgegenüber wurde nur Agglutination nie beobachtet. Agglutination und Lysis kommen nebeneinander vor, wiewohl sie oft auffallend gegeneinander verschoben sind. So ist es beispielsweise möglich, daß in kleinen Serumverdünnungen (1:100 bis 1:500) hauptsächlich Agglutination beobachtet wird, diese dann in den folgenden Verdünnungsstufen dem Bild der Lysis weicht, um in den höchsten noch reagierenden Serumverdünnungen wieder der Agglutination Platz zu machen. Es ist dies eine Feststellung, die man in irgendeiner adäquaten Form fast bei allen Antigen-Antikörperreaktionen machen kann: nämlich, daß die Qualität des für das Auge sichtbaren Reaktionsausdruckes weitgehend vom quantitativen Verhältnis Antigen/Antikörper abhängig ist und ein unzumutbarer Antigen- oder Antikörperüberschuß eine Reaktion sogar zu hemmen vermag. Auch ist der Zustand der Agglutination oftmals ein temporärer, indem die agglutinierten Leptospiren anschließend der Lysis verfallen und die Agglutination für uns nicht mehr wahrnehmbar ist.

Es muß betont werden, daß das Beschriebene nur Gültigkeit hat, wenn zur genannten Untersuchungsmethode lebende Leptospirenantigene verwendet werden. Die Beurteilung der Beweglichkeit der Leptospiren ist dabei von großer Bedeutung. Um Fehlresultate zu vermeiden ist es wichtig, daß die als Antigene verwendeten Leptospirenstämme ausgewachsen sind. BORG PETERSEN und FAGROEUS haben in systematisch angelegten Vergleichsreihen gezeigt, daß *ceteris paribus* der Agglutinititer eines Serums, mit lebenden Leptospiren geprüft, zunimmt, entsprechend der Dichtigkeitsabnahme des verwendeten Antigens. Bei Besichtigung im Dunkelfeld muß eine wimmelnde Menge sich kräftig bewegender Leptospiren vorgefunden werden. Kränkelnde, zu junge oder zu alte Kulturen darf man nicht verwenden, weil solche Leptospiren schon durch unspezifische Reize zerfallen können und dadurch positive Befunde vortäuschen. Das zu untersuchende Material (Serum, Liquor) sollte klar und ohne bakterielle Verunreinigung sein, weil alle diese Nebenerscheinungen eine genaue mikroskopische Kontrolle beeinträchtigen. Es spielt keine Rolle, ob das zu untersuchende Serum in frischem oder inaktiviertem Zustande untersucht wird. Wir haben wiederholt parallel gehende Vergleichsuntersuchungen durchgeführt und keine divergenten Resultate erhalten. Vor allem trifft nicht zu, daß durch das Inaktivieren z. B. Lysine zerstört würden, nur noch Agglutinine vorhanden wären und demzufolge bei positiven Reaktionen reine Agglutination vorgefunden

würde. Es zeigt sich wieder einmal mit aller Deutlichkeit, daß die verschieden benannten Antikörper (Agglutinine, Lysine, Präcipitine usw.) nur Erscheinungsformen sind. Bei Immunitätsreaktion mit Leptospiren begegnen wir vor allem der Lysis, weil die Leptospiren wenig resistente, hinfällige Wesen sind, deren Leib sich schon bei geringer äußerer Beeinflussung auflöst.

Leptospiren lassen sich nicht nur durch spezifische Antikörper, sondern auch durch unspezifische Einwirkungen leicht zum Verschwinden bringen. Geben wir z. B. zu einer Leptospirenkultur die minimale Menge Penicillin, die notwendig ist, um bakteriostatisch zu wirken, so beobachten wir in der Leptospirenkultur nicht nur einen Vermehrungsstillstand, sondern die Leptospiren werden unbeweglich und lösen sich in kurzer Zeit auf.

Um mit einiger Sicherheit auf das Vorliegen einer Leptospirose schließen zu dürfen, verlangen wir einen Serumtiter von mindestens 1:400 und einen Liquortiter von mindestens 1:4. Selbstverständlich können bei erst kurzer Krankheitsdauer oder schon lange zurückliegender Erkrankung auch niedrigere Titer spezifischen Ursprungs sein. Im übrigen aber sind Titer von 1:100 und 1:200 mit Vorbehalt zu bewerten. Ebenso sehen wir bei 24stündiger Ablesung von Liquorproben im unverdünnten oder 1:2 verdünnten Liquor nicht selten eine teilweise Lyse, die unspezifischer Natur ist.

Zur Zeit verwenden wir für unsere laufenden Untersuchungen folgende Leptospirenarten:

- L. grippotyphosa*,
- L. sejroe*,
- L. australis*,
- L. pomona*,
- L. mitis* (JOHNSON),
- L. autumnalis*,
- L. ballum*,
- L. canicola*,
- L. icterohaemorrhagiae* (WEIL),
- L. bataviae*.

Setzt man nun das einem Leptospirosepatienten entstammende, Antikörper aufweisende Serum mit obigen Leptospirenstämmen zur Immunitätsreaktion in vitro an, wird die entsprechende Reaktion in den seltensten Fällen nur mit derjenigen Leptospirenart positiv ausprechen, durch welche die Leptospirose wirklich verursacht ist. Das Serum reagiert meistens mit mehreren, gelegentlich mit allen Arten und da ist es nun wichtig, die genaue Titerhöhe der verschiedenen artspezifischen Agglutinine zu ermitteln. Man nimmt an, daß die Leptospirose durch diejenige Art verursacht ist, gegen welche das Serum den höchsten Antikörpertiter aufweist. In der Regel wird diese Auffassung zutreffen. Trotzdem ist bei der Beurteilung eine gewisse Vorsicht am Platze. Wir haben wiederholt beobachtet, daß bei Pomonaleptospirosen der Titer gegenüber *L. sejroe* anfänglich bedeutend höher war als derjenige gegenüber *L. pomona*, und man erst bei wiederholten Untersuchungen zum wahren Resultat gelangte. So zeigte beispielsweise ein Schweinezüchter am 7. Krankheitstag einen Titer gegenüber *L. pomona* von 1:100, gegenüber *L. sejroe* dagegen von 1:1600. Eine am 41. Krankheitstag durchgeführte Kontrolluntersuchung ergab jetzt einen Anti-pomona-Titer von 1:25000 und je einen Anti-sejroe-, -grippotyphosa- und -australis-Titer

von 1:400. Ähnliche Verhältnisse beobachtet man bei Canicolaleptospiren, indem dort zu Beginn der Erkrankung der Anti-icterohaemorrhagiae-Titer oft ebenso hoch oder gar höher ist wie der Anti-canicola-Titer und erst im Laufe der Krankheit eine Verschiebung zugunsten der wirklichen Urheberart stattfindet.

Bei diagnostischen Untersuchungen sind möglichst alle bekannten, zumindest aber alle im Lande vorkommenden Leptospirenarten zu berücksichtigen. Bei Weglassen der wirklichen Urheberart wird entweder die Krankheit gar nicht diagnostiziert oder es wird wegen der Mit-Agglutinationen auf eine falsche, gar nicht bestehende Leptospirose geschlossen. Zwei Beispiele mögen dies erläutern:

Solange wir die *L. mitis* nicht kannten, sahen wir verschiedentlich klinisch klassische Schweinehüterkrankheiten, die überhaupt keine oder nur minime, nicht verwertbare Agglutinititer aufwiesen. Die *L. mitis* ist eine selbständige Art, bei welcher wir in der Regel nur geringe Mit-Agglutinationen feststellen.

Bei *L. canicola*-Affektionen beobachten wir, wie schon betont, immer ein ausgeprägtes Mitgehen des Icterohaemorrhagiae-Titers, der oft gleich hoch ist wie der Canicola-Titer. Würde man nur mit der *L. icterohaemorrhagiae* prüfen, müßte wegen der scheinbar beweisend großen Titerhöhe ein Morbus Weil diagnostiziert werden, was eine Fehldiagnose bedeutete. Beim effektiven Morbus Weil sehen wir keine wesentliche Mit-Agglutination von seiten der *L. canicola*, so daß bei gleichzeitig bestehendem hohem Anti-icterohaemorrhagiae- und Anti-canicola-Titer auf eine Canicolaleptospirose geschlossen werden darf.

Es ist sehr wohl möglich oder sogar wahrscheinlich, daß wir auch heute noch nicht alle Leptospirenarten kennen. Wir sehen immer wieder Krankheitsfälle, die klinisch als Leptospirose imponieren, bei denen aber nur niedrige Antikörpertiter (1:100 bis 1:200) gefunden werden. Es liegt auf der Hand, solch niedrige Werte als Mit-Agglutinationen uns noch unbekannter Leptospirenarten zu deuten.

Beim Ablesen der Agglutinations-Lysis-Proben empfiehlt es sich, das Sichtbild der Reaktion möglichst präzise in ein vorgezeichnetes Schema einzutragen. Diese Aufzeichnungen verlangen erstens eine exakte Beobachtung und hinterlassen andererseits ein zuverlässiges Ablesungsprotokoll. Nachfolgendes Beispiel soll zeigen, wie diese Ablesungen grundsätzlich zu erfolgen haben:

Tabelle 22. *Ablesungsschema einer positiven Agglutinations-Lysis-Reaktion.*

a) Erste Agglutinationsprobe mit allen zur Testierung verwendeten Leptospirenarten.
Serumverdünnung 1:100.

	Leptospirentypen							
	Grippytypophosa		Sejroe		Icterohaemorrhagiae		Übrige Arten	
	Ablesung nach		Ablesung nach		Ablesung nach		Ablesung nach	
	2 Std	24 Std	2 Std	24 Std	2 Std	24 Std	2 Std	24 Std
Lebende Leptospiren .	0	0	++	0	+++	++	++++	++++
Stärke der Lysis. . .	++++	++++	++	++++	+	++	0	0
Agglutination	+	0	0	0	0	0	0	0
Vorläufiges Resultat .	positiv		positiv		positiv		negativ	

Um von diesen Ablesungen ein konkretes Bild zu vermitteln, seien nachfolgend einige Reproduktionen von Dunkelfeldbildern angefügt:

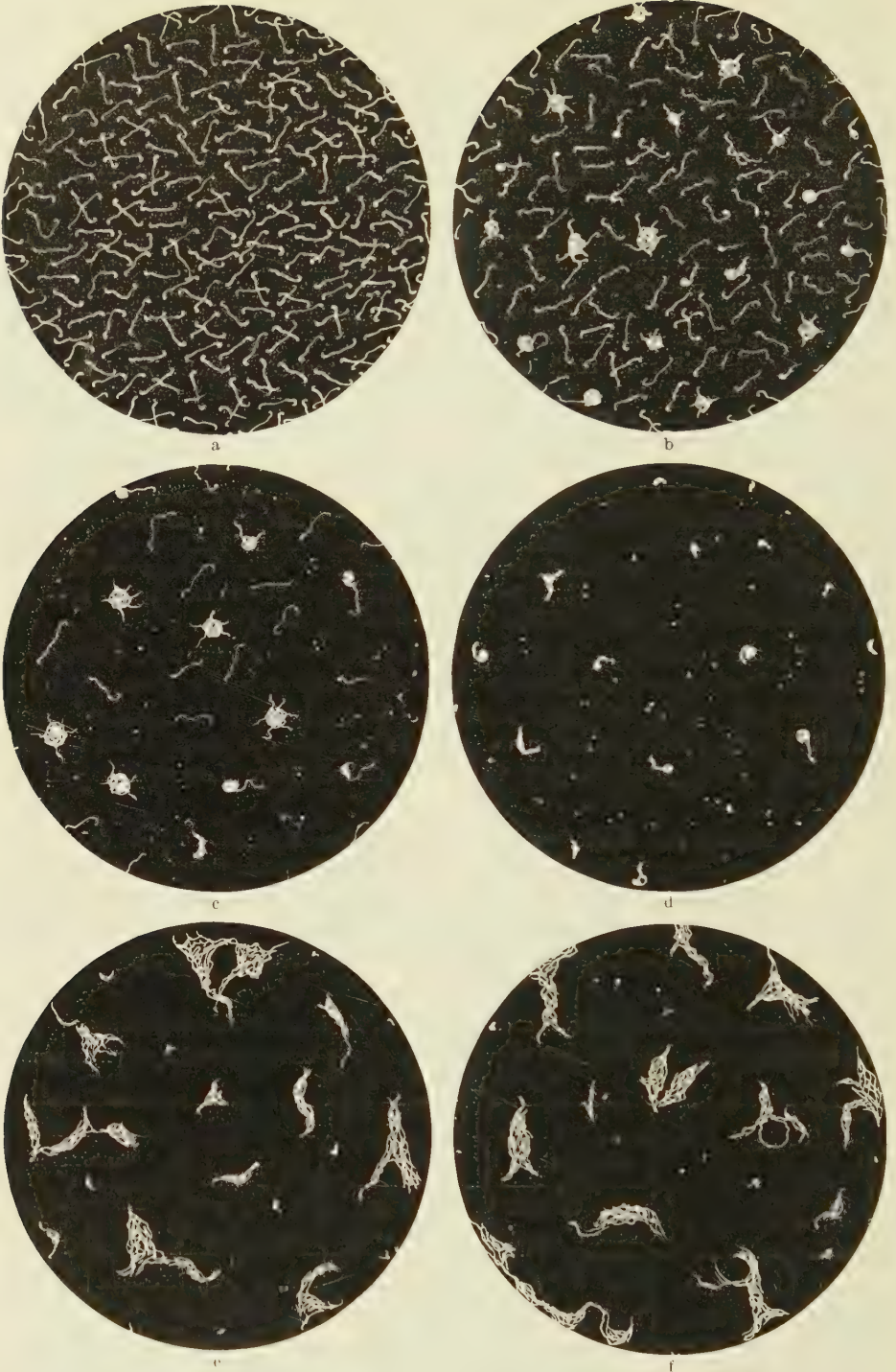


Abb. 17a—f. Reproduktion von Sichtbildern bei Agglutinations-Lysis-Reaktionen. a) Ausgewachsene, nicht veränderte Leptospirenkultur. b) Schwache Lysis, Großteil der Leptospiren noch intakt, spärlich Zerfallskörper. Entspricht dem Endtiter einer positiven Reaktion. c) Starke Lysis, noch wenig intakte Leptospiren, reichlich Zerfallskörper. d) Fast vollständige Lysis, keine lebenden Leptospiren mehr, nur noch einzelne Zerfallskörper. e) und f) Agglutination von Leptospiren (Flechtwerk), wie man sie vor allem bei Verwendung formalinisierter Antigene zu Gesicht bekommt.

Tabelle 22. b) Zweite Agglutinationsprobe, Austitrierung des Serums mit den positiv reagierenden Leptospirenarten.

Leptospiren- typ	Ab- lesung nach	Serumverdünnungen									End- titer
		Kontrolle	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	
Grippotyphosa	2 Std	+++	0	0	0	+	+	++	+++	+++	positiv 1:6400
		0	+++	+++	++++	+++	+++	++	+	+	
	24 Std	0	+	+	0	0	0	0	0	0	
		++++	0	0	0	0	+	+	++	++++	
Sejroe	2 Std	+++	++	++	+++	++++					positiv 1:400
		0	+	+	0	0					
	24 Std	+++	0	+	++	+++					
		0	+++	++	+	0					
Ictero- haemorrhagiae	2 Std	++++	+++	++++							positiv 1:100
		0	+	0							
	24 Std	++++	++	++++							
		0	++	0							

Diagnose: Leptospirosis grippotyphosa.

2. Agglutinationsreaktion; Antigen: Formolabgetötete Leptospiren.

An Stelle lebender Leptospirenstämmen können als Antigen auch Leptospirenkulturen verwendet werden, denen 0,5% Formaldehyd zugesetzt worden ist. Solche Formolantigene kann man während 4—6 Monaten aufbewahren und bei Bedarf jederzeit davon Gebrauch machen.

Die Reaktionsbilder, die auftreten, sind grundsätzlich dieselben wie diejenigen mit lebenden Leptospiren, in ihrer äußeren Erscheinung aber insofern wesentlich anders, als die formolfixierten Leptospiren nicht mehr der Lysis verfallen. Das Sichtbild der Immunitätsreaktion ist demzufolge dasjenige einer reinen Agglutination.

Wir selbst haben längere Zeit vergleichende Paralleluntersuchungen, sowohl mit lebenden als auch mit formolabgetöteten Leptospirenantigenen gemacht. Die festgestellten Antikörpertiter waren mit beiden Methoden ziemlich genau dieselben. Die oft störenden Mit-Agglutinationen treten bei Verwendung toter Antigene ebenfalls in Erscheinung. Niedrige Lysistiter (1:100 bis 1:200), die nicht spezifischer Natur waren, d. h. auf keine durchgemachte Leptospirose zurückzuführen waren, wurden bei formolfixierten Antigenen dagegen nicht beobachtet. Diese sind demzufolge geeignet, bei fraglichen sog. unspezifischen Reaktionen Klarheit zu schaffen.

Man kann in guter Treue geteilter Ansicht sein, ob für laufende Untersuchungen besser lebende oder besser tote Antigene verwendet werden. Die Entscheidung wird sich weitgehend nach der eingebürgerten Gewohnheit richten. Wir selbst sind der Methode des Arbeitens mit lebenden Leptospiren treu geblieben, weil wir das Gefühl haben, daß man durch die Wahrnehmungen an lebenden und beweglichen Leptospiren einen feineren Gradmesser besitzt als beim Vor-Augen-halten unbeweglicher toter Leptospirenkörper.

Elektronenoptische Leptospirenaufnahmen von Agglutinations-Lysis-Reaktionen.



Abb. 18.



Abb. 19.

Abb. 18 u. 19. Agglutinierte Caniculaleptospiren, fixiert mit Osmiumsäure. Man beachte das längsseitige Aneinanderliegen der Leptospiren. Vergr. 7000.

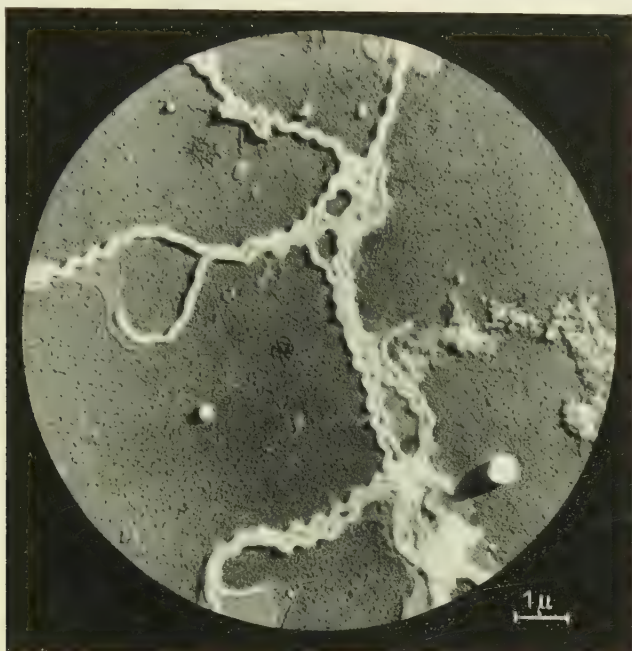


Abb. 20.



Abb. 21.

Abb. 20 u. 21. *L. canicola* aus Agglutinations-Lysis-Reaktion, fixiert mit Osmiumsäure und goldbeschattet.
Man beachte die Protoplasmaaustritte aus den in Auflösung begriffenen Leptospirenleibern.



Abb. 22. *L. canicola* (aus Agglutinations-Lysis-Reaktion), fixiert mit Osmiumsäure, in Auflösung begriffen. Vergr. 7000.

B. Andere Antigen-Antikörperreaktionen.

1. Komplementbindungsreaktion.

Dieselbe wurde von BESSEMAN und NÉLIS beschrieben und in der Folge vor allem von GAETGENS in Hamburg propagiert und von ihm auch über Jahre mit Erfolg angewandt. Das Antigen wird wie folgt hergestellt:

Ausgewachsene Leptospirenkulturen werden durch hochtouriges Zentrifugieren konzentriert und das Konzentrat mit physiologischer Kochsalzlösung wieder auf $\frac{1}{10}$ Volumen der ursprünglichen Kulturmenge aufgeschwemmt und mit 0.3% Phenol versetzt. Es ist wichtig, das Phenol erst nach dem Zentrifugieren beizugeben. Durch den Phenolzusatz tritt eine teilweise Auflösung der Leptospirenleiber ein, was vor dem Zentrifugieren unter allen Umständen vermieden werden muß.

Bei dem phenolisierten Antigen ist in üblicher Weise der für Komplementbindungsreaktion maßgebende Gebrauchstiters festzustellen.

Die Komplementbindungsreaktionen liefern ungefähr gleichhohe Antikörpertiter wie die Agglutinationsreaktionen, hinken aber in ihrem zeitlichen Auftreten einige Tage hinter jenen her.

Unseres Erachtens kann die Komplementbindungsreaktion vor allem dann zur Anwendung empfohlen werden, wenn aus irgendwelchen äußeren Gründen nur gegen eine Leptospirenart (z. B. Weilsche Krankheit) zu prüfen ist. Das hämolytische System als Indicator liefert augenfällige und damit unmißverständliche Resultate.

Auch bei der Komplementbindungsreaktion treten selbstverständlich die Mit-Antikörper in Erscheinung, so daß auch hier einerseits möglichst alle in Frage kommenden Leptospirenarten berücksichtigt werden sollten und die Antikörperbestimmung bis zum Endtiter durchgeführt werden muß. Bedient man sich nun, wie das beispielsweise bei uns der Fall ist, 10 verschiedener diagnostischer Leptospirenarten, ergibt dies bei Anwendung der Komplementbindungsreaktion einen riesigen Reagenzglasaufwand.

2. Agglutinationstest für makroskopische Ablesung. (Nach PAEZ.)

Es werden dazu formalinisierte, durch hochtouriges Zentrifugieren konzentrierte Leptospirenkulturen verwendet, denen eine 10%ige Gentiana-Violett-lösung beigemischt wird.

Dieses Antigen wird mit den Serumverdünnungen gemischt und nach 2stündiger Einwirkungszeit gegen einen dunklen Hintergrund makroskopisch abgelesen.

Die Methode kann nicht empfohlen werden, weil sie zu wenig genaue Resultate liefert. Die höchsten, auf diese Weise ermittelten Agglutinititer betragen nach ESSEVELD 1:250.

3. Präcipitationsreaktion.

Durch auf artefiziellm Wege bewirkte Lysis von sedimentierten Leptospiren kann ein Antigen hergestellt werden, welches mit entsprechenden Immunsereen bei Überschichten eine Präcipitation ergibt. Auch diese Art des Antikörpernachweises findet praktisch kaum Verwendung.

III. Identifizierung von Leptospirenstämmen.

A. Auf serologischem Wege.

1. Herstellung stammspezifischer Immunsereen.

Zur Herstellung spezifischer Immunsereen werden am besten Kaninchen verwendet. Man immunisiert die Tiere mit lebenden oder formolgetöteten Leptospirenkulturen. Von denselben werden den Tieren in Abständen von 3—4 Tagen je 1—2 cm³ intravenös einverleibt. 6—8 Injektionen bewirken in der Regel hochtitrige Antikörperbildungen. Nachdem man sich durch eine Probeblutentnahme über die Wertigkeit des Immunserums orientiert hat, werden die Tiere 1 Woche nach der letzten Injektion entblutet. Das auf diese Weise erhaltene Serum wird gegen alle bekannten bzw. zur Verfügung stehenden bekannten Leptospirenarten im Agglutinations-Lysis-Versuch geprüft (s. erster Teil, Kapitel IV/A).

2. Gekreuzter Agglutinationstest.

Will man verschiedene Stämme gegenseitig prüfen, stellt man mit jedem Stamm mindestens 1 Immunserum her und prüft anschließend Immunsereen und Stämme gegenseitig.

Daß die absolute Titerhöhe gegenüber bestimmten Leptospirenstämmen an sich nicht sehr bedeutungsvoll ist, wurde im Kapitel IV des ersten Teiles ausführlich dargelegt. Von artgleichen Stämmen muß vielmehr verlangt werden, daß sie analoge spezifische Antikörper produzieren.

3. Absättigungsversuch nach CASTELLANI.

Will man die Identität, d. h. die Artgleichheit verschiedener Leptospirenstämmen beweisen, wird heute verlangt, daß nicht nur artgleiche Immunseren erzeugt werden können, sondern daß sich die in diesen Immunseren enthaltenen Antikörper durch die Leptospiren auch wieder gegenseitig absättigen lassen. Das Absättigen eines Leptospiren-Immunserums bietet nur deshalb gewisse technische Schwierigkeiten, weil zur Absättigung eine relativ große Leptospirenmenge benötigt wird. Wir selbst haben eine Absorptionstechnik entwickelt, die sich mit den Vorschriften von SCHÜFFNER und BOHLANDER als übereinstimmend erwies. Darnach wird wie folgt vorgegangen:

Das vorher genau austitrierte Immunserum wird so stark verdünnt, daß der zur Absättigung bestimmte Agglutinititer höchstens 1:3000 beträgt. 0,05 cm³ dieser Serumverdünnung werden vermischt mit 0,45 cm³ durch Zentrifugieren gewonnenes Kulturkonzentrat. (Das Serum wird also nochmals 1:10 verdünnt, was bei der späteren Auswertung zu berücksichtigen ist.) Das Serum-Leptospirengemisch wird während 4 Std bei Zimmertemperatur stehen gelassen, die Leptospiren, soweit sie nicht der Lysis verfallen sind, durch Zentrifugieren sedimentiert und das Serum neuerdings genau austitriert.

Beispiele solcher Absättigungsversuche finden sich in Kapitel IV des ersten Teiles.

Stammen die abzusättigenden Immunseren von Leptospiren derselben Art, müssen sich deren Antikörper durch den zu bestimmenden Eigenstamm sowie durch bekannte Beweisstämmen gleich stark absättigen lassen.

B. Durch den Tierversuch.

Tierversuche finden bei genauen Artbestimmungen kaum mehr Anwendung, sollen aber der Vollständigkeit halber und weil sie unter gewissen Umständen möglicherweise als Notbehelf dienen können, erwähnt werden.

1. PFEIFFERScher Versuch.

Einem Meerschweinchen werden gleichzeitig Immunserum und lebende Leptospirenkultur in die Bauchhöhle injiziert. Einem Vergleichstier wird „normales“ Serum gleicher Art sowie der lebende Leptospirenstamm injiziert. Kongruieren die im Immunserum enthaltenen Antikörper mit den Antigenen des Leptospirenstammes (wobei sowohl das Immunserum als auch der Leptospirenstamm die Unbekannte verkörpern können), müssen die Leptospiren in der Peritonealhöhle in wenigen Minuten bis maximal 1 Std aufgelöst werden, was beim Kontrolltier nicht der Fall ist.

Über „Antigen-Differenzierungen mit Hilfe des PFEIFFERSchen Versuchs“ hat BLINDENHÖFER eingehend berichtet.

Injiziert man mehreren Meerschweinchen das Immuneserum in verschiedenen Verdünnungen, kann auf diese Weise auch der ungefähre Antikörpergehalt des Serums festgestellt werden.

2. Nachweis gekreuzter Immunität.

Dieser Versuch kommt nur für Leptospirenarten in Frage, welche für das betreffende Versuchstier obligat pathogen sind. Ein mit einem bestimmten Leptospirenstamm immunisiertes Tier oder mit einem Immuneserum passiv immunisiertes Tier wird mit dem zu prüfenden Leptospirenstamm infiziert. Ist der zu prüfende Stamm mit dem zur Immunisierung verwendeten identisch, sollte eine gekreuzte Immunität bestehen, so daß das Versuchstier nicht mehr erkrankt. Auch hier müssen nicht vorbehandelte Tiere zu Kontrollzwecken herangezogen werden.

Tierversuche zum Nachweis gekreuzter Immunität sind gerade bei der *L. ictero-haemorrhagiae*, wo sie noch am ehesten Anwendung finden könnten, mit Vorbehalt zu bewerten, da es sich gezeigt hat, daß einzelne Stämme dieser Art gegen andere nicht unbedingt oder nicht vollständig zu schützen vermögen.

IV. Impfstoffherstellung.

Nach den neuesten tiexperimentellen Untersuchungen von MEYER und BRUNNER haben heute folgende 2 Herstellungsvorgänge praktische Bedeutung:

A. Formolimpfstoffe.

Je 30 cm³ eines für Leptospirenwachstum geeigneten flüssigen Nährsubstrates werden in ERLÉNMEYER-Kolben von 250 cm³ Inhalt abgefüllt, und mit je 1 cm³ eines gut wachsenden Leptospirenstammes beimpft. Nach 5—7 Tagen sollten die Leptospirenkulturen „ausgewachsen“ sein. Es werden 2% Formaldehyd zugesetzt und die Kulturflüssigkeit während 1 Std womöglich bei 14000 Umdrehungen zentrifugiert. Das Leptospirensediment wird in $\frac{1}{10}$ Volumen der ursprünglichen Kulturmenge physiologischer Kochsalzlösung wieder aufgeschwemmt und bis zum Gebrauch kühl gehalten.

Eine bessere immunisierende Wirkung als formolgetötete besitzen durch Tiefkühltrocknung hergestellte Impfstoffe (Lyophilized antigen).

B. Durch Tiefkühltrocknung hergestellte Impfstoffe.

In gleicher Weise wie für Formolimpfstoffe werden Leptospirenkulturen hergestellt. Diese werden jedoch lebend zentrifugiert (ebenfalls während 1 Std bei 14000 Umdrehungen). Das Leptospirensediment wird in $\frac{1}{10}$ Volumen der ursprünglichen Kulturmenge einer 3%igen Dextrinlösung aufgeschwemmt, tief gekühlt und in diesem Zustand getrocknet.

Zum Gebrauch wird der Trockenimpfstoff in einer solchen Menge physiologischer Kochsalzlösung wieder gelöst, daß das direkt vor dem Trocknen dagewesene Volumen wiederhergestellt ist.

Literatur.

- ABE, T.: Über den Erreger des „Hasami“-Fiebers. Jap. J. of Exper. Med. **12**, 255 (1934). u. Mitarb. (1933): Quoted by Kaneko, Kotorii and Aoki. Z. Hyg. **117**, 202 (1935) and quoted by Aoki, Kaneko and Morimoto. Z. Hyg. **117**, 208 (1935).
- ALTANA: Zit. von M. ZECHINI. Un fuocolaio di leptospirosi in provincia di Bologna. Rendiconti delle adunanze della Società Medica Chirurgica di Bologna, adunanza del 24. Febr. 1949, S. 222.
- Diskussionsbemerkung. Rendiconti delle adunanze della Società Medica Chirurgica di Bologna, adunanza del 24. Febr. 1949, S. 226.
- AVERY, O. T.: Siehe F. GRIFFITH u. O. T. AVERY.
- BABUDIERI, B.: Die systematische Stellung der Leptospiren des „Mezzano-Typus“. Z. Immun.forschg **99**, 442 (1941).
- Le Leptospire acquisite e la loro costituzione antigenica. Re. Ist. sup. Sanità **10**, 962 (1947).
- Ricerche di Microscopia elettronica. Re. Ist. sup. Sanità **11**, 1046 (1948).
- Ricerche sulle cosiddette „Pseudospore“ delle Leptospire. Boll. Soc. ital. Biol. super. **24**, H. 6 (1948).
- Diverse persönliche Mitteilungen.
- e B. BROCCA: Ricerche sul passaggio di Leptospira attraverso la placenta. Ist. Sanità pubbl. Re. **4**, 144 (1941). Ref. Zbl. Bakter. **141**, 302 (1942).
- BAERMANN, G.: Die kurzfristigen Spirochaetenfieber. In: KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH, Die pathogenen Mikroorganismen, Bd. 7, S. 661. 1930.
- u. M. ZUELZER: Die Einheitlichkeit aller tier- und menschenpathogenen Spirochaeten vom Typus der Spirochaeta icterogenes und der mit ihr verwandten Wasserspirochaeten vom gleichen Typus. Zbl. Bakter. Orig. **105**, 345 (1928).
- BAKER, J. A., and R. B. LITTLE: Leptospirosis in cattle. J. of Exper. Med. **88**, 295 (1948).
- BERGEY: Manual of Determinative Bacteriology. 1948.
- BERNKOPF, H.: Experimental work on leptospirosis in man and cattle in Palestine. Refuah Vet. (Palest.) **3**, 49 (1946).
- BERNKOPF, H., and L. OLITZKI: Bovine leptospirosis. Report of the Palestine. Board Sci. Ind. Res. **1948**, 20.
- L. OLITZKI and A. STUCZINSKI: Studies on bovine and human Leptospirosis. J. Inf. Dis. **80**, 53 (1947); **83**, 232 (1948).
- BESSEMAN, A., et P. NÉLIS: Sur la fixation du complément dans la spirochétose ictero-hémorragique. C. R. Soc. Biol. Paris **98**, 1234 (1928).
- et U. THIRY: Sur une leptospirose spontanée de la souris. C. r. Soc. Biol. Paris **101**, 486 (1929).
- BLINDENHÖFER, I.: Über die Antigendifferenzierung bei Leptospiren mit Hilfe des PFEIFFER-schen Versuches. Z. Hyg. **129**, 350 (1949).
- BLOCH, H.: Internation. Bakteriöl. Nomenklaturcodex. Schweiz. Z. Path. u. Bakter. **13**, 358 (1950).
- BOIVIN, A., A. DELAUNAY, R. VENDRELY u. Y. LEHOULT: Experientia **2**, 139 (1946). Zit. nach H. SCHLOSSBERGER, Z. Hyg. **131**, 152 (1950).
- BORG PETERSEN, C.: Leptospirenuntersuchungen in Dänemark. Acta Conv. Tert. de Trop. Morbis **1**, 396 (1938).
- L. saxkoebing, ein neuer serologischer Leptospirentyp. Acta path. scand. (Københ.) **21**, 165 (1944).
- L. ballum, a new serological leptospira type? Acta path. scand. (Københ.) **21**, 594 (1944).
- Experience on Leptospirosis in Denmark. Proc. Roy. Soc. Med. **42**, 714 (1949).
- u. A. FAGROEUS: The influence of the antigen density and other factors on the serum titer in the agglutination-lysis-test for leptospirosis. Acta path. scand. (Københ.) **26**, 4 (1949).
- BRUNNER, K. T.: Notes on Leptospira Canicola Infection in Hamsters (Mesocricetus a. auratus): Pathogenesis, Treatment and Immunity. The California Veterinarian, Juli-August 1948.
- Persönliche Mitteilungen.

- BRUNNER, K. T., and K. F. MEYER: Streptomycin in the treatment of *Leptospira* Carriers. Experiments with Hamsters and Dogs. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **70**, 450 (1949).
- — Effect of Aureomycin on *Leptospira Canicola* and *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Vitro and Experimental Carrier Studies. Amer. J. Vet. Res. **11**, 38 (1950).
- CHANG, S. L.: Studies on *leptospira icterohaemorrhagiae*. J. Clin. Invest. **25**, 752 (1946).
- J. Inf. Dis. **81**, 28 (1947). Ref. Bull. Inst. Pasteur. **47**, 942 (1949).
- M. BUCKINGHAM and M. P. TAYLOR: Studies on *L. icterohaem.* J. Inf. Dis. **82**, 256 (1948).
- CLAYTON, G. E. B., and E. H. DERRICK: The presence of leptospirosis of a mild type (sevenday-fever) in Queensland. Med. J. Austral. **24**, 647 (1937).
- COLLIER, W. A., u. H. ESSEVELD: Over een leptospirastam uit de hersenen eener vleermuis. Meded. Dienst Volksgezdh. Nldld.-Indie **27**, 262 (1938).
- u. A. MOCHTAR: Een serologisch afwijkende leptospirastam uit de nier eener vleermuis. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **79**, 226 (1939).
- DOELEMEN, F. P. J.: Ziekte van Weil, rechtstreeks overgebracht van mensch op mensch. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **76**, 5057 (1932). Zit. nach VAN THIEL.
- DOERR, R.: Summarische Übersicht über die Erreger von Infektionskrankheiten des Menschen. In Lehrbuch der inneren Medizin, Bd. I, S. 51. Berlin: Springer 1934.
- Die Immunitätsforschung, Bd. I. Antikörper, Teil 1. Die Immunitätsforschung, Bd. III, Die Antigene. Die Immunitätsforschung, Bd. IV, Antikörper, Teil 2. Wien: Springer 1947—1949.
- DUCHOW, E., and H. C. DOUGLAS: Rhodomicrobium vannielii, a new photoheterotrophic Bacterium. J. Bacter. **58**, 409 (1949).
- ESSEVELD, H.: Zit. nach VAN THIEL, The leptospiroses. Leiden 1948.
- FLETCHER, W.: Zit. nach VAN THIEL, The leptospiroses. Leiden 1948.
- GAETGENS, W.: Die Serodiagnose der WEILschen Krankheit mittels Komplementbindungsversuche- und Flockungsreaktion. Immunforschg **79**, 428 (1933).
- Beitrag zur Serodiagnose der WEILschen Krankheit. Klin. Wschr. **1933 I**, 697.
- GISPEN, R., u. W. SCHÜFFNER: Die Spaltung der klassischen *L. icterohaemorrhagiae* in zwei Biotypen. Zbl. Bakter. Orig. **144**, 427 (1939).
- GOETZE: Zit. nach Mikrobiologie und allgemeiner Seuchenlehre von M. ROLLE, S. 320. Stuttgart: Ferdinand Enke 1949.
- GOSCHENOUR, W. S., R. H. YAGER and P. W. WETMORE: Antigenic similarity of bovine Strains of leptospirae and *Leptospira pomona*. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **74**, 199 (1950).
- GRIFFITH, F., u. O. T. AVERY: Zit. nach H. SCHLOSSBERGER. Z. Hyg. **131**, 152 (1950).
- GSELL, O.: Benigne Leptospirosen. Schweiz. med. Jb. **63** (1945).
- Leptospirosis Pomona, die Schweinehüterkrankheit. Schweiz. med. Wschr. **1946**, 237.
- Benigne Leptospirenkrankungen und Unfall. Z. Unfallmed. u. Berufskrh. **1** (1947).
- u. W. RIMPAU: Endemisches Feldfieber in der Schweiz. Münch. med. Wschr. **1944**, 117.
- u. E. WIESMANN: Leptospirosis Typ Mitis. Schweiz. med. Wschr. **1948**, 503.
- HEUSSER, H.: Die periodische Augenentzündung, eine Leptospirose? Schweiz. Arch. Tierheilk. **40**, 287 (1948).
- O. GSELL, U. KANTER u. E. WIESMANN: Die periodische Augenentzündung der Pferde als Leptospirenkrankung. Schweiz. med. Wschr. **1948**, 756.
- IDO, Y., R. HOKI, H. ITO and H. WANI: The rat as a carrier of spirochaeta icterohaemorrhagiae, the causative agent of WEIL's disease. J. of Exper. Med. **26**, 341 (1917).
- INADA: Zit. nach WALCH-SORGDRAGER.
- u. IDO: Eine zusammenfassende Mitteilung über die Entdeckung des Erregers (eine neue Species Spirochaeta) der WEILschen Krankheit. Tokyo Jjishuishi Febr. 1915.
- IDO, HOCKI, KANEKO u. ITO: Eine kurze Mitteilung über die Entdeckung des Erregers der sog. WEILschen Krankheit in Japan und über die neueren Untersuchungen über die Krankheit. Korresp.bl. Schweiz. Ärzte **1916**, 993. J. of Exper. Med. **1916**, 377.
- JAKOB, A.: Über die Morphologie der *Leptospira Canicola*. Med. Klin. **1947**, Nr 1.
- Ein Beitrag zur Frage der Dauerformen (Körnchenstadium) bei den Leptospiren. Klin. Wschr. **1949**, 364.
- JENNY, J., u. U. KANTER: Ein Seuchenzug von Stuttgarter Hundeseuche in Zürich 1944/45. Schweiz. Arch. Tierheilk. **88**, 161 (1946).

- JIROVEC, O.: Der Einfluß des Streptomycins und Patulins auf einige Protozoen. *Experientia* **5**, 74 (1949).
- JOHNSON, D. W.: Leptospirosis in Australia. *Proc. Sixth Pacif. Sci. Congr.* **5**, 331 (1939).
- The discovery of a fifth Australian type of leptospirosis. *Med. J. Austral.* **1**, 431 (1942).
- JORGE, R.: Une épidémie à Lisbonne d'ictère hémorragique d'origine hydrique contractée per os. *Bull. Off. internat. Hyg. publ. Paris* **24**, 88 (1932).
- KATHE, J.: Das Schlamm- oder Feldfieber. *Erg. Hyg.* **24**, 159 (1941).
- Infektion mit *L. grippotyphosa* bei Tieren. *Z. Immun.forschg* **103**, 60 (1943).
- Witterungsverhältnisse und Mäuse in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie des Schlamm- und Feldfiebers. *Zbl. Bakter. Orig.* **151**, 481 (1945).
- Die Epidemiologie des Schlamm- oder Feldfiebers. *Kongr.ber. Epid.-Tagg Berlin, März 1948*.
- Experimentelle Untersuchungen über die Infektion von Mäusen mit *Leptospira grippotyphosa*. *Zbl. Bakter. Orig.* **152**, 479 (1948).
- KLARENBECK, A., u. W. SCHÜFFNER: Het voorkomen van een afwijkend *Leptospiraras* in Nederland. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **77**, 4271 (1933).
- KOLOCHINE-ERBER, B., et M. COLLOMBIER: Agglutination des leptospires, en particulier de *L. pomona*, par les sérums de porcs. *Ann. Inst. Pasteur.* **1950**, Nr 4, 370.
- KORTHOFF, G.: Experimentelles Schlammfieber beim Menschen. *Zbl. Bakter. Orig.* **125**, 429 (1932).
- KOSHINA, Y., S. SHIOZAWA and K. KITAYAMA: Studies of *L. hebdomadis*. *J. of Exper. Med.* **42**, 873 (1925).
- KOTTER, G. F.: Leptospirosis in Atjeh. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **83**, 3590 (1939).
- LANDSTEINER, K.: *Zit. nach R. DOERR, Die Immunitätsforschung, Bd. III. Die Antigene, Bd. IV. Antikörper zweiter Teil.*
- LITTLE, R. B., and J. A. BAKER: Leptospirosis in cattle. *J. Amer. vet. med. Assoc.* **116**, 105, 875 (1950).
- LUMLEY, G. F.: A serological investigation leading to the discovery of distinct serological groups of leptospirae causing leptospirosis as it occurs in Northern Queensland. *Med. J. Austral.* **24**, 654 (1937).
- MEYER, K. F., u. K. T. BRUNNER: Chemotherapy and Immunity in *Leptospirae Canicola* and *L. Icterohaemorrhagiae* Infections. *Acta Trop.* **7**, 1 (1950).
- MINO, P.: Über Leptospirosen bei den Arbeitern der Reisfelder Oberitaliens. *Z. Immun.forschg* **96**, 466 (1939).
- Über die Leptospiorenkrankheit der oberitalienischen Reisfeldarbeiter. *Zbl. inn. Med.* **61**, 418 (1940).
- Weitere Untersuchungen über die Leptospirose der Reisfeldarbeiter. *Münch. med. Wschr.* **1941**, 96.
- Zur Epidemiologie der Leptospirosen. *Klin. Wschr.* **1942**, 337.
- MINCHIN: *Zit. nach VAN THIEL, The leptospiroses. Leiden 1948.*
- MORTON, H. E., and TH. F. ANDERSON: The morphology of *L. icterohaemorrhagiae* and *L. canicola* by the electron microscope. *J. Bacter.* **45**, 143 (1943).
- NIKOLAJEFF, J. J.: Die Leptospirosen in der Sowjetunion. *Med. Parasitol.* **65** (1946). *Ref. Zbl. Bakter.* **93** (1947).
- NOGUCHI, H.: A comparative study of experimental prophylactic inoculation against *Leptospira icterohaem.* *J. of Exper. Med.* **28**, 561 (1918).
- *Monogr. Rockefeller Inst. Med. Res.* **20**, 10 (1924). *Zit. in P. H. VAN THIEL, The Leptospirosis, S. 43. Leiden 1948.*
- OXSANEN, O.: Bakteriologische und serologische Untersuchungen über Leptospiiren. *Diss. Bern 1948.*
- OLEJNIK, E., and S. SHNEYERSON: A new strain of leptospira in Israel. *Nature (Lond.)* **166**, 526 (1950).
- PAEZ, R.: Untersuchungen über die Ikterus-Spirochaete. *Rev. Inst. Bacter. Chile, Sant.* **5**, 12 (1936). — *Zbl. Bakter. Ref.* **123**, 330.
- PULCHER, F.: *Ospedali civili di Genova. Briefliche Mitteilungen 1947.*
- REITER, H., u. RAMME: *Zit. in Babudieri, Ricerche di Laboratorio per la diagnosi delle Leptosirosi. Re. Ist. sup. Sanità* **5**, 1019 (1942).

- RIEL, J. VAN: Le foyer centro-africain de leptospirose. Ann. Soc. belge Méd. trop. **1946**.
 — Conceptions actuelles de la Leptospirose. Brux. méd. **1948**, 2054.
- RIMPAU, W.: Über das Vorkommen von Schlammfieber in Südbayern im Sommer 1926. Münch. med. Wschr. **1927**, 921.
 — Weiteres zur Epidemiologie des Feldfiebers in Südbayern. Münch. med. Wschr. **1938**, 1977.
 — Das Feldfieber in Südbayern 1937—1939. Münch. med. Wschr. **1940**, 172.
 — Das deutsche Feldfieber. Erg. inn. Med. **59**, 140 (1940).
 — Über Leptospirose bei den Muriden. Zbl. Bakter. Orig. **150**, 136 (1943).
 — Systematische Untersuchungen von Feldmäusen auf Leptospiren. Münch. med. Wschr. **1942**, 991; **1943**, 48.
 — Über Feldfieber in Südbayern. Med. Wschr. **1948**, 475.
 — Die Leptospirose. München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1950.
- RUYS, A. CH.: Het aantoonen van *L. icterohaemorrhagiae* in bloed met behulp van tweevoudige centrifugatie. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **77**, 3654 (1933).
- SARDJITO, M.: Verdwijning van de virulentie gepaard gaande met veranderingen van antigene eigenschappen van een rattenleptospira door te kweken in water. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **72**, 1364 (1932).
 — Overwegingen, waarom in de stad Semarang meer leptospirosis voorkomt dan in de Stad Batavia. Meded. Dienst. Volksgezdh. Ndl.-Indië **27**, 147 (1938).
 — Een samenvattend overzicht over leptospirosis. Med. Ber. **3**, Nr 1 (1939).
 — Leptospirosis in Midden-Java met de seroreactie op verschillende typen van leptospirae. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **80**, 280 (1940).
 — u. A. MOCHTAR: Een tweede leptospirastam uit verdrat Semarang 173 met een nieuw serologisch type en zijn verdere eigenschappen. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **79**, 2520 (1939).
 — u. R. WIRASMO: Een onderzoek van het water van Rawa-Pening als badwater in verband met eventuele typhus, dysenterie en leptospirosis-infectie. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **77**, 458 (1937).
- SAVINO, E., u. E. RENNELLA: Leptospiras y leptospirosis en la Rep.-Argent. El Atenas **1944**, ferner Dia Med. **16**, 14, 43, 45 (1944).
 — Depositos Animales de leptospirosis humana. Proc. 4. Internat. Congr. on Trop.-Med. **1**, 328 (1948).
- SCHINDLER, E.: Die Leptospiren der Rinder. Serologische Untersuchungen über ihre Verbreitung in Westdeutschland unter besonderer Berücksichtigung der *Leptospira bovis* Infektionen. Inaug.-Diss. Frankfurt a. M. 1950.
- SCHLOSSBERGER, H.: Über gerichtete Mutationen bei Leptospiren. Z. Hyg. **131**, 152 (1950).
 — Zur systematischen Stellung der Spirochaeten. Naturwiss. **8**, 186 (1950).
 — Neuere Untersuchungen über Leptospiren. Vortr. Tagg der Österr. Hygieniker u. Mikrobiologen in Salzburg. 1950.
 — Persönliche Mitteilungen.
 — u. H. BRANDIS: Über die Typendifferenzierung bei pathogenen Mikroorganismen. Klin. Wschr. **1950**, 37/38.
 — J. GRILLO u. L. SCHEELE: Über das Vorkommen von Typen bei der Spirochaete der WEILschen Krankheit. Klin. Wschr. **1935**, 1133.
 — u. R. POHLMANN: Serologische Untersuchungen über Stuttgarter Hundeseuche. Zbl. Bakter. Orig. **136**, 182 (1936).
- SCHMID, G.: Arbeiten über Leptospiren bei Tieren und das bösartige Katarrhalfieber des Rindes. Bull. schweiz. Akad. med. Wschr. **1950**, 21.
 — Persönliche Mitteilungen.
 — u. R. GIOVANELLA: Über die Schweinehüterkrankheit. Schweiz. Arch. Tierheilk. **1947**, 1.
- SCHÜFFNER, W.: Zur Systematisierung der Leptospiren. 3. internat. Kongr. Tropenmed. u. Malaria Amsterdam 1938.
 — Zur Systematisierung der Leptospiren. Acta Conv. Tert. Trop. Morbis **1**, 407 (1938).
 — WEILsche Krankheit im Küstenlande. Dtsch. med. Wschr. **1941**, 393.
 — u. H. BOHLANDER: Zur Technik des Absättigungsversuches. Zbl. Bakter. Orig. **144**, 434 (1939).
 — Schlammfieber in Holland; die Feldmaus als Träger. Zbl. Bakter. Orig. **148**, 264 (1942); **149**, 359 (1942).

- SEMSKOW, M. W.: Die Ätiologie, klinische Formen und die Epizootologie des Icterus infectiosus der Rinder. *Z. Vet.kde* **53**, 7 (1941).
- SUTHERLAND, A. K., and F. F. MORILL: An Outbreak of Leptospirosis in cattle. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* **113**, 860, 468 (1948).
- TAGAKI, S.: Passage of the spirochaeta of Aktivami and WEIL's disease through the placenta. *Ref. Trop. Dis. Bull.* **25**, 610 (1928).
- TARASSOFF, S.: Trois écloisions d'épidémie de fièvre aquatique du Leptospirosis Grippotyphosa aquatilis en URSS. *Bull. Off. internat. Hyg. publ. Paris* **27**, 928 (1928).
- — La Question des leptospires en URSS. I. Congr. Internat. Microb. Paris 1930.
- Note additionnelle de l'agent infectieux de la Schlammfieber. *Ann. Inst. Pasteur* **46**, 635 (1931).
- Sur la decouverte de l'agent infectieux de la Schlammfieber. *Ann. Inst. Pasteur* **46**, 222 (1931).
- u. KIKTENKO: Zit. nach O. GSELL, Klinik der Leptospiren-Erkrankungen. In *Ergebnisse der inneren Medizin*, Bd. I, S. 429. 1949.
- TAYLOR, J., and A. N. GOYLE: Leptospirosis in the Andamans. *Indian Med. Res. Mem.* **20**, 1 (1931).
- TERSCHICH: *Z. Hyg.* **49**, 107 (1942). *Ref. Münch. med. Wschr.* **1944**, 117.
- THIEL, P. H. VAN: Immunisatie tegen de ziekte van WEIL met levende avirulente leptospirae. *Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië* **78**, 1859 (1938).
- The leptospiroses. *Universitij Pers. Leiden* 1948.
- u. ITERSON: An electron-microscopical study of *Leptospira biflexa*. *Proc. Kon. nederl. Akad. Wetensch.* **50**, Nr 8 (1947). Zit. in P. H. VAN THIEL, *The Leptospiroses*, S. 2. Leiden 1948.
- TIMMERMAN, W. A.: Onderzoekingen over *L. icterohaemorrhagiae*. Thesis Utrecht 1927. Zit. in P. H. VAN THIEL, *The Leptospiroses*, S. 2. Leiden 1948.
- TOMCSIK, J., u. H. SCHWARZWEISS: Über die Art der Haemagglutinine bei Mononucleosis infectiosa und bei der Serumkrankheit. *Schweiz. med. Wschr.* **1950**, Nr 1, 1.
- TOPLEY, W. W. C., and G. S. WILSON: The principles of bacteriology and immunity, 2. Aufl. London. Zit. nach R. DOERR, *Die Immunitätsforschung*, Bd. I, Antikörper, Teil 1.
- UHLENHUTH, P.: Zur Epidemiologie der WEIL'schen Krankheit mit besonderer Berücksichtigung der Wasserinfektionen. *Münch. med. Wschr.* **1930**, 2047, 2098.
- Zur Epidemiologie, Diagnose, Therapie und Prophylaxe der WEIL'schen Krankheit. *Med. Welt* **1936**, 989.
- Epidemiologie der WEIL'schen Krankheit. *Acta Conv. Tert. de Trop. Morbis* **1**, 357 (1938).
- Die Maus als Leptospirenträger. *Z. Immunforsch* **104**, 338 (1943).
- Zur Epidemiologie und Immunbiologie der Leptospirosen mit besonderer Berücksichtigung des Schlammfeldfiebers. *Z. Immunforsch* **103**, 35 (1943).
- Über das Persistieren der Schutzstoffe im Serum alter WEIL-Fälle. *Münch. med. Wschr.* **1944**, 404.
- Zur Typenfrage und Biologie der *Leptospira pseudoicterogenes*. *Zbl. Bakter. Orig.* **152**, 470 (1948).
- u. W. FROMME: WEIL'sche Krankheit. In *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH*, Bd. 7, S. 487 (1930).
- u. GROSSMANN: Zit. nach UHLENHUTH u. FROMME, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH*, Bd. 7, S. 487. 1930.
- u. M. ZUELZER: Zit. nach UHLENHUTH u. FROMME, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH*, Bd. 7, S. 487. 1930.
- VAGO, S.: Hôpital Français du Vorarlberg Feldkirch. Briefliche Mitteilungen 1947.
- VAUCHEL, M.: Leptospiroses en Indochine. *Acta Conv. Tert. Trop. Morbis* **1**, 372 (1938).
- VERVOORT, H., and WOLFF: Zit. in P. H. VAN THIEL, *The leptospiroses*, S. 43. Leiden 1948.
- VIŠANSKÝ: Biologisches Institut der Universität Bratislava. Persönliche Mitteilungen 1947.
- WALCH, E. W.: Demonstratie van een *Leptospira*, geïsoleerd bij een patient, die klinisch het beeld eener WEIL'sche ziekte vertoonde. *Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië* **66**, 115 (1926).
- WALCH-SORGDRAGER, B.: Les Leptospiroses, *Bull. Organ. d'Hyg. Soc. d. Nat.* Bd. VIII, Nr 1—2, S. 152. 1939.

- WANI, H.: Über die Prophylaxe der Spirochaetosis icterohaemorrhagiae durch Schutzimpfung. Z. Immun.forschg **79**, 1 (1933).
- WEIL, A.: Über eine eigentümliche mit Milztumor, Ikterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. Dtsch. Arch. klin. Med. **39**, 209 (1886).
- WIESMANN, E.: Zur Leptospirenforschung in der Schweiz. Schweiz. med. Wschr. **1946**, 678.
- Der heutige Stand der Leptospirenforschung. Z. Hyg. **130**, 80 (1949).
- M.: Die Leptospiren und ihre Diagnostizierung im Laboratorium. Mitteilungen, Schweiz. Verb. Laborantinnen **2**, 1 (1946).
- WIKERHAUSER, T.: Contribution a l'étude des leptospiroses bovines en Suisse. Inaug.-Diss. Bern 1950.
- WINSSER, J.: Über eine Anzahl von Leptospirenfällen bei Hunden. Z. Inf.krkh. Haustiere **60**, 103 (1943).
- WOLBACH and BINGER: J. Med. Res. **30**, 23 (1914). Zit. in BABUDIERI, Le leptospire acquicole, Re. Ist. sup. Sanità **10**, 962 (1917).
- WOLFF, J. W.: Serologische onderzoekungen bij von leptospirosis febrilis. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië (Feestbundel) **1936**, 499.
- Studien über Leptospira bovis. 4. internat. Kongr. für Mikrobiologie 1950.
- YAGER, R. H., W. S. GOCHENOUR and P. W. WETMORE: Recurrent Iridocyclitis (Periodic ophthalmia) of Horses. J. Amer. Vet. Med. Assoc. **117**, 207 (1950).
- ZECHINI, M.: Un focolaio di leptospirosi in provincia di Bologna. Rendiconti delle adunanze della Società Medica Chirurgica di Bologna, adunanza del 24. Febr. 1949, S. 218.
- ZUELZER, M.: Biologische und systematische Spirochaetenuntersuchungen. Zbl. Bakter. Orig. (Beih.) **85**, 154 (1921).
- Freilebende Wasserspirochaeten als Krankheitserreger. Zbl. Bakter. Orig. **89**, 171 (1923).
- Über die Kultivierung mariner Spirochaeten mit einigen Bemerkungen zur Züchtung der Sp. obermeieri. Zbl. Bakter. Orig. **96**, 424 (1925).
- Die Spirochaeten. In Handbuch der pathogenen Protozoen von PROWAZEK, Bd. 3, S. 1627. 1931.

